Projet de décision d'homologation PRD2015-13

Souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens*

(also available in English)

Le 15 avril 2015

Ce document est publié par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada. Pour de plus amples renseignements, veuillez communiquer avec :

Publications
Agence de réglementation de
la lutte antiparasitaire
Santé Canada
2720, promenade Riverside
I.A. 6607 D
Ottawa (Ontario) K1A 0K9

Internet : pmra.publications@hc-sc.gc.ca
santecanada.gc.ca/arla
Télécopieur : 613-736-3758
Service de renseignements :
1-800-267-6315 ou 613-736-3799
pmra.infoserv@hc-sc.gc.ca

Canada

ISSN : 1925-0894 (imprimée)
1925-0908 (en ligne)

Numéro de catalogue : H113-9/2015-13F (publication imprimée)
H113-9/2015-13F-PDF (version PDF)

© Sa Majesté la Reine du chef du Canada, représentée par le ministre de Santé Canada, 2015

Tous droits réservés. Il est interdit de reproduire ou de transmettre l'information (ou le contenu de la publication ou du produit), sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit, reproduction électronique ou mécanique, photocopie, enregistrement sur support magnétique ou autre, ou de la verser dans un système de recherche documentaire, sans l'autorisation écrite préalable du ministre de Travaux publics et Services gouvernementaux Canada, Ottawa (Ontario) K1A 0S5.

Table des matières

Aperçu 1
Projet de décision d'homologation concernant la souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens*. 1
Fondements de la décision d'homologation de Santé Canada 1
Qu'est-ce que la souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens*? 2
Considérations relatives à la santé 3
Considérations relatives à l'environnement 5
Considérations relatives à la valeur 6
Mesures de réduction des risques 6
Prochaines étapes 7
Autres renseignements 7
Évaluation scientifique 9
1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations 9
1.1 Description de la matière active 9
1.2 Propriétés physiques et chimiques de la matière active et des préparations commerciales 10
1.3 Mode d'emploi 11
1.4 Mode d'action 11
2.0 Méthodes d'analyse 11
2.1 Méthodes d'identification du microorganisme 11
2.2 Méthodes de détermination de la pureté de la souche 12
2.3 Méthodes de détermination de la teneur en microorganismes du produit destiné à la fabrication des préparations commerciales 12
2.4 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables et non viables) du microorganisme (matière active) et de ses métabolites d'intérêt 12
2.5 Méthodes de détermination des impuretés d'intérêt dans le produit fabriqué 12
2.6 Méthodes de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de conservation du microorganisme 13
3.0 Effets sur la santé humaine et animale 13
3.1 Sommaire des données relatives à la toxicité et à l'infectivité 13
3.1.1 Études 13
3.1.2 Renseignements additionnels 16
3.1.3 Déclarations d'incidents concernant la santé humaine ou animale 16
3.1.4 Analyse des risques 16
3.2 Évaluation des risques liés à l'exposition en milieux professionnel et résidentiel et à l'exposition occasionnelle 17
3.2.1 Exposition en milieu professionnel et risques connexes 17
3.2.2 Exposition en milieu résidentiel, exposition occasionnelle et risques connexes 18
3.3 Évaluation de l'exposition par le régime alimentaire et des risques connexes 19
3.3.1 Aliments 19
3.3.2 Eau potable 19
3.3.3 Risques aigus et chroniques associés à l'exposition par le régime alimentaire pour les sous-populations sensibles 19

3.3.4 Exposition globale et risques connexes 20
3.3.5 Limites maximales de résidus 20
3.4 Effets cumulatifs 21
4.0 Effets sur l'environnement 21
4.1 Devenir et comportement dans l'environnement 21
4.2 Effets sur les espèces non ciblées 22
4.2.1 Effets sur les organismes terrestres 23
4.2.2 Effets sur les organismes aquatiques 27
4.3 Déclarations d'incidents concernant l'environnement 29
5.0 Valeur 29
5.1 Examen des avantages 29
5.2 Allégations acceptables et efficacité contre les organismes nuisibles 29
5.3 Effets nocifs ne concernant pas l'innocuité du produit 30
6.0 Considérations relatives à la politique sur les produits antiparasitaires 30
6.1 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques 30
6.2 Produits de formulation et contaminants préoccupants pour la santé ou l'environnement 30
7.0 Résumé 32
7.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel qu'il est fabriqué 32
7.2 Santé et sécurité humaines 32
7.3 Risques pour l'environnement 33
7.4 Valeur 33
8.0 Projet de décision d'homologation 34
Liste des abréviations 35
Annexe I Tableaux 37
Tableau 1 Toxicité et infectivité du produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747, de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC 37
Tableau 2 Toxicité chez les espèces non ciblées 42
Tableau 3 Groupes de modes d'action selon le Fungicide Resistance Action Committee pour les produits de remplacement actuellement homologués, pour utilisation en serre et/ou sur des cultures établies au champ (en date de décembre 2014) 51
Tableau 4 Liste des utilisations appuyées 52
Références 55

Aperçu

Projet de décision d'homologation concernant la souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens*

En vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* et de ses règlements d'application, l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada propose l'homologation complète à des fins de vente et d'utilisation du produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747 (*Bacillus amyloliquefaciens* strain D747 Technical), de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC, contenant comme matière active de qualité technique la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, pour la répression ou la répression partielle de diverses maladies fongiques ou bactériennes touchant les cucurbitacées, les légumes-fruits, les raisins, la laitue, les fruits à pépins, la pomme de terre, le soja et les fraises.

Après l'évaluation des renseignements scientifiques à sa disposition, l'ARLA juge que, dans les conditions d'utilisation approuvées, le produit a une valeur et ne présente aucun risque inacceptable pour la santé humaine ou l'environnement.

Le présent aperçu décrit les principaux points de l'évaluation, tandis que la section Évaluation scientifique présente des renseignements techniques détaillés sur les évaluations des risques pour la santé humaine et pour l'environnement ainsi que sur la valeur des fongicides *B. amyloliquefaciens* souche D747, Double Nickel 55 et Double Nickel LC.

Fondements de la décision d'homologation de Santé Canada

L'objectif premier de la *Loi sur les produits antiparasitaires* est de prévenir les risques inacceptables liés à l'utilisation des produits antiparasitaires pour les personnes et l'environnement. L'ARLA estime que les risques sanitaires ou environnementaux sont acceptables[1] s'il existe une certitude raisonnable qu'aucun dommage à la santé humaine, aux générations futures ou à l'environnement ne résultera de l'exposition au produit ou de l'utilisation de celui-ci, compte tenu des conditions d'homologation proposées. La Loi exige aussi que les produits aient une valeur[2] lorsqu'ils sont utilisés conformément au mode d'emploi figurant sur leur étiquette. Ces conditions d'homologation peuvent comprendre l'ajout de mises en garde particulières sur l'étiquette d'un produit en vue de réduire davantage les risques.

---

1 « Risques acceptables » tels que définis au paragraphe 2(2) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

2 « Valeur » telle que définie au paragraphe 2(1) de la *Loi sur les produits antiparasitaires* : « L'apport réel ou potentiel d'un produit dans la lutte antiparasitaire, compte tenu des conditions d'homologation proposées ou fixées, notamment en fonction : *a*) de son efficacité; *b*) des conséquences de son utilisation sur l'hôte du parasite sur lequel le produit est destiné à être utilisé; et *c*) des conséquences de son utilisation sur l'économie et la société de même que de ses avantages pour la santé, la sécurité et l'environnement. »

Pour en arriver à une décision, l'ARLA applique des méthodes et des politiques modernes et rigoureuses d'évaluation des risques. Ces méthodes tiennent compte des caractéristiques uniques des sous-populations humaines sensibles (par exemple, les enfants) et des organismes présents dans l'environnement (par exemple, ceux qui sont les plus sensibles aux contaminants de l'environnement). Les méthodes et les politiques tiennent également compte de la nature des effets observés et de l'incertitude des prévisions concernant les répercussions de l'utilisation des pesticides. Pour obtenir de plus amples renseignements sur la façon dont l'ARLA réglemente les pesticides, sur le processus d'évaluation et sur les programmes de réduction des risques, veuillez consulter la section Pesticides et lutte antiparasitaire du site Web de Santé Canada à santecanada.gc.ca/arla.

Avant de rendre une décision finale concernant l'homologation de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, l'ARLA examinera tous les commentaires reçus du public en réponse au présent document de consultation[3]. L'Agence publiera ensuite un document de décision d'homologation[4] dans lequel elle présentera sa décision, les raisons qui la justifient, un résumé des commentaires formulés au sujet du projet de décision d'homologation et sa réponse à ces commentaires.

Afin d'obtenir des précisions sur les renseignements exposés dans le présent aperçu, veuillez consulter la section Évaluation scientifique du présent document de consultation.

Qu'est-ce que la souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens*?

La souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, qui est la matière active visée par la demande d'homologation, est une bactérie présente dans la nature qui vit en association étroite avec les racines, les feuilles et les autres parties des plantes. Elle est réputée prévenir l'établissement des champignons et des bactéries en colonisant rapidement la surface des plantes. La souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, ainsi que ses préparations commerciales sous forme de granulés ou de liquides, sont homologuées aux États-Unis depuis 2011 pour la lutte contre une vaste gamme de maladies en cultures ornementales, en horticulture et en grandes cultures. L'homologation de deux préparations commerciales contenant cette matière active, soit Double Nickel 55 et Double Nickel LC, est demandée au Canada pour la lutte contre les maladies fongiques et bactériennes qui touchent les cucurbitacées, les légumes-fruits, les raisins, la laitue, les fruits à pépins, la pomme de terre, le soja et les fraises. Elles sont destinées à être utilisées pour le traitement sur les feuilles et le sol.

---

[3] « Énoncé de consultation », conformément au paragraphe 28(2) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

[4] « Énoncé de décision », conformément au paragraphe 28(5) de la *Loi sur les produits antiparasitaires*.

Considérations relatives à la santé

Les utilisations approuvées de la souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens* peuvent-elles nuire à la santé humaine?

Il est peu probable que la souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens* nuise à la santé lorsque Double Nickel 55 et Double Nickel LC sont utilisés conformément au mode d'emploi figurant sur leur étiquette.

Les personnes pourraient être exposées à la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* lorsqu'elles manipulent et appliquent Double Nickel 55 et Double Nickel LC, ou ingèrent les produits traités. Au moment d'évaluer les risques pour la santé, plusieurs facteurs importants sont pris en considération :

- les propriétés biologiques du microorganisme (par exemple, la génération de sous-produits toxiques);
- les déclarations d'incident;
- la capacité du microorganisme à causer des maladies ou à entraîner des effets toxiques, d'après les études toxicologiques;
- les concentrations auxquelles des personnes pourraient être exposées comparativement à l'exposition à d'autres souches du microorganisme présentes naturellement dans l'environnement.

Les études toxicologiques effectuées sur des animaux de laboratoire permettent de décrire les effets sur la santé qui pourraient découler de l'exposition à de fortes doses et de pouvoir ainsi déterminer la pathogénicité, l'infectivité ou la toxicité d'un produit. Lors des essais réalisés avec la matière active de qualité technique et des formulations granulaires et liquides contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* sur des animaux en laboratoire, aucun signe de maladie ou de toxicité importante n'a été constaté.

Résidus dans l'eau et les aliments

Les risques associés à la consommation d'eau et d'aliments ne sont pas préoccupants.

Dans le cadre de l'évaluation préalable à l'homologation d'un pesticide, Santé Canada doit s'assurer que la consommation de la quantité maximale de résidus qui pourrait demeurer sur un aliment lorsqu'un pesticide est utilisé conformément au mode d'emploi sur l'étiquette ne sera pas préoccupante pour la santé humaine. Une limite maximale de résidus (LMR) correspondant à la quantité maximale attendue est ensuite fixée en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires*, conformément à la disposition prévue par la *Loi sur les aliments et drogues* concernant la falsification des aliments. Santé Canada fixe les LMR en s'appuyant sur des données scientifiques afin de s'assurer que les aliments offerts au Canada sont sûrs.

Il devrait y avoir des résidus de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* au moment de la récolte sur les cultures traitées par applications foliaires. *Bacillus amyloliquefaciens* est une bactérie omniprésente dans la plupart des environnements terrestres. La souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens* n'a pas eu d'effet nocif (maladie ou toxicité) lorsqu'elle a été administrée par voie orale à des rats, et elle n'est pas connue pour produire des métabolites préoccupants sur le plan toxicologique. De plus, aucun effet nocif n'a été signalé pour ce microorganisme aux États-Unis où il est homologué comme pesticide depuis 2011. La probabilité que des résidus de ce microorganisme contaminent les approvisionnements d'eau potable est jugée faible. Par conséquent, les risques alimentaires sont jugés faibles et non préoccupants. L'Agence a donc déterminé que l'établissement d'une LMR en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* n'est pas requis pour la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*.

Risques en milieu résidentiel et autres milieux non professionnels

Le risque estimé lié à l'exposition non professionnelle n'est pas jugé préoccupant.

L'utilisation de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC est proposée sur les cultures agricoles seulement. Le mode d'emploi sur l'étiquette de ces préparations comporte des énoncés visant à réduire au minimum la dérive de pulvérisation. Par conséquent, il est peu probable que les adultes, les jeunes et les tout-petits soient exposés à la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*. Même en cas d'exposition, le risque pour la population générale n'est pas préoccupant, car on n'a observé aucun signe de maladie ou de toxicité dans les études toxicologiques réalisées avec ce microorganisme.

Risques professionnels liés à la manipulation de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC

Les risques professionnels ne sont pas préoccupants lorsque Double Nickel 55 et Double Nickel LC sont utilisés conformément au mode d'emploi proposé sur l'étiquette, lequel comprend des mesures de protection.

Les travailleurs qui manipulent Double Nickel 55 et Double Nickel LC peuvent être exposés à la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* par contact direct avec la peau ou les yeux ou par inhalation. C'est pourquoi il devra être mentionné sur l'étiquette du produit que les travailleurs exposés aux préparations commerciales doivent porter des gants imperméables, une chemise à manches longues, un pantalon long, des chaussures et des chaussettes ainsi qu'un masque filtrant antibrouillard ou un appareil de protection respiratoire muni d'un filtre N-95, P-95 ou R-95 approuvé par le National Institute for Occupational Safety and Health-approved (NIOSH). Le port de lunettes de sécurité n'est pas exigé puisque les études sur l'irritation oculaire soumises n'ont relevé aucun potentiel d'irritation.

L'exposition des non-utilisateurs devrait être bien inférieure à celle que subissent ceux qui manipulent le produit ou à celle des préposés au mélange et au chargement; on l'estime donc négligeable. Par conséquent, les risques pour la santé des non-utilisateurs ne sont pas préoccupants.

Considérations relatives à l'environnement

Qu'arrive-t-il lorsque la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* est introduite dans l'environnement?

Les risques pour l'environnement ne sont pas préoccupants.

Bacillus amyloliquefaciens est très souvent observé dans les sols. Selon les renseignements disponibles dans la littérature scientifique sur son devenir dans l'environnement, la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, comme toutes les espèces de *Bacillus*, produit des endospores lorsque les conditions environnementales sont défavorables, ce qui lui permet de résister à la chaleur et à la sécheresse extrêmes. La capacité de produire des endospores est un facteur important qui explique la présence généralisée de la bactérie dans les sols. Cependant, comme la plupart des endospores sont sensibles à la lumière solaire, les espèces de *Bacillus* ne sont pas très répandues à la surface des plantes. Même si la concentration de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* sera supérieure aux concentrations naturelles de cette espèce juste après l'application du pesticide, elle reviendra à la normale au fil du temps.

Bacillus amyloliquefaciens peut survive pendant un certain temps dans les habitats aquatiques parce qu'il peut produire des endospores et s'adsorber à la couche de sédiments. Cependant, il est peu probable que les endospores puissent germer et se multiplier dans les sédiments. Double Nickel LC et Double Nickel 55 ne sont pas destinés à être utilisés en milieu aquatique, et il est peu probable que l'exposition des milieux aquatiques à la dérive de pulvérisation et aux eaux de ruissellement (après une pluie) à la suite d'une application au champ soit importante.

Des études ont été réalisées afin de déterminer les effets de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* sur les oiseaux, les arthropodes terrestres (y compris les abeilles), les plantes, les poissons et les invertébrés aquatiques. Ces études ont démontré que la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* n'est ni toxique ni pathogène pour ces organismes.

Bien qu'aucun essai non ciblé n'ait été réalisé sur les mammifères sauvages, les microorganismes et les plantes aquatiques, il y avait suffisamment de renseignements pertinents dans la littérature scientifique pour déterminer que Double Nickel 55 et Double Nickel LC ne devraient pas avoir d'effet nocif sur ces organismes non ciblés lorsqu'ils sont utilisés conformément au mode d'emploi sur l'étiquette.

Considérations relatives à la valeur

Quelle est la valeur de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC?

Double Nickel 55 et Double Nickel LC sont des fongicides/bactéricides biologiques à large spectre qui répriment les maladies sur un large éventail de plantes hôtes.

Ces produits peuvent constituer un outil additionnel précieux pour les programmes viables de lutte contre les maladies et pour la production biologique au Canada. La matière active bactérienne de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC colonise rapidement la surface des plantes et empêche le développement d'organismes pathogènes pour les plantes en raison de la concurrence pour les ressources et de la production de métabolites de défense antagonistes. Ces produits, plus efficaces lorsqu'ils sont appliqués de façon préventive, ont démontré qu'ils réduisent l'incidence et la gravité de différentes maladies ayant d'importantes incidences économiques à divers degrés de pression parasitaire. Vu la complexité du mode d'action de cette matière active, l'apparition d'une résistance est peu probable, et ces produits seraient donc utiles dans un programme de lutte intégrée contre les maladies.

Mesures de réduction des risques

Les étiquettes des contenants de produits antiparasitaires homologués précisent le mode d'emploi de ces produits. On y trouve notamment des mesures de réduction des risques visant à protéger la santé humaine et l'environnement. Les utilisateurs sont tenus par la loi de s'y conformer.

Voici les principales mesures proposées qui devraient figurer sur l'étiquette des fongicides Double Nickel 55 et Double Nickel LC pour réduire les risques révélés dans le cadre de l'évaluation.

Principales mesures de réduction des risques

Santé humaine

Les personnes exposées de façon répétée à de grandes quantités éventuelles de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC peuvent développer une sensibilité cutanée ou respiratoire. Tous les microorganismes, y compris la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, contiennent des substances reconnues comme des sensibilisantes potentiels. Par conséquent, toute personne qui manipule ou applique ces préparations commerciales doit porter des gants imperméables, une chemise à manches longues, un pantalon long, des chaussures et des chaussettes, ainsi qu'un masque filtrant antibrouillard ou un appareil de protection respiratoire muni d'un filtre N-95, P-95 ou R-95 approuvé par le NIOSH.

Environnement

L'étiquette de ces préparations commerciales comportera des mises en garde concernant l'environnement qui visent à prévenir la contamination des milieux aquatiques par suite de l'utilisation de Double Nickel LC et de Double Nickel 55.

Prochaines étapes

Avant de rendre une décision définitive au sujet de l'homologation de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, l'ARLA examinera tous les commentaires reçus du public en réponse au présent document de consultation. Elle acceptera les commentaires écrits au sujet du projet de décision pendant une période de 45 jours à compter de la date de publication du document. Veuillez faire parvenir tout commentaire aux Publications, dont les coordonnées se trouvent sur la page couverture. L'Agence publiera ensuite un document de décision d'homologation dans lequel elle présentera sa décision, les raisons qui la justifient, un résumé des commentaires formulés au sujet du projet de décision d'homologation et sa réponse à ces commentaires.

Autres renseignements

Une fois qu'elle aura pris sa décision concernant l'homologation de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, l'ARLA publiera un document de décision d'homologation (reposant sur l'évaluation scientifique qui suit). En outre, les données d'essai citées en référence seront mises à la disposition du public, sur demande, dans la salle de lecture de l'ARLA située à Ottawa.

Évaluation scientifique

Souche D747 de Bacillus amyloliquefaciens

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations

1.1 Description de la matière active

Matière active	Spores de la souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens*
Fonction	Biopesticide utilisé pour réprimer diverses maladies fongiques ou bactériennes sur les cultures de serre et les grandes cultures
Nom binomial	Souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens*
Désignation taxonomique[1]	
Règne	Bacteria
Embranchement	Firmicutes
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Bacillaceae
Genre	*Bacillus*
Espèce	*amyloliquefaciens*
Souche	D747
Renseignement sur l'état des brevets	Aucun
Pureté nominale de la matière active	Matière active de qualité technique : 100,0 % p/p de souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, 2 × 10[illegible] spores/g (minimum) Préparations commerciales : Double Nickel 55 contient 25,0 % p/p de souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, 5 × 10[illegible] spores/g (minimum). Double Nickel LC contient 98,85 % p/p de souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, 1 × 10[illegible] spores/g (minimum).
Nature des impuretés pertinentes d'importance toxicologique, environnementale ou autre	La matière active de qualité technique ne renferme aucune impureté ni aucun microcontaminant appartenant à la catégorie des substances de la voie 1 de la Politique de gestion des substances toxiques. Ce produit doit satisfaire aux normes relatives au rejet de contaminants microbiologiques. En outre, aucune toxine connue affectant les mammifères ni aucun autre métabolite toxique connu n'est présent dans la matière active de qualité technique ou les préparations commerciales.

[1] Désignation taxonomique : http://www.itis.gov/Taxonomy/Browser/taxotax.cgi

1.2 Propriétés physiques et chimiques de la matière active et des préparations commerciales

Matière active de qualité technique – produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747

Propriété	Résultat
Couleur	Beige
État physique	Poudre fine
Odeur	Levure
Stabilité	Jusqu'à un an à 4 à 25 °C
pH	6,5 à 6,7 (1 %)
Masse volumique apparente	0,307 à 0,375 g/mL

Préparation commerciale – Double Nickel 55

Propriété	Résultat
Couleur	Brun pâle
État physique	Granulaire
Odeur	Levure
Stabilité	Jusqu'à un an à 4 à 25 °C
Caractéristiques de corrosion	Ne cause pas la perforation, le noircissement ou des fuites aux joints des sacs métallisés après 9 mois d'entreposage
pH	7,5 à 8,5 (1 %)
Masse volumique	0,60 à 0,78 g/cm^3
Granulométrie (essai au tamis sec)	0,125 à 0,5 mm
Essai au tamis humide	0,02 % (maille 200)
Humidité en pourcentage	8,12
Suspensibilité en pourcentage	74,6
Teneur en poussière	Presque exempt de poussière (1,6 mg)
Densité	0,60 à 0,78

Préparation commerciale – Double Nickel LC

Propriété	Résultat
Couleur	Brun à brun pâle
État physique	Liquide
Odeur	Levure
Stabilité	Jusqu'à un an à 4 à 25 °C
Caractéristiques de corrosion	Ne cause pas la perforation, le noircissement ou des fuites aux joints des bouteilles en polyéthylène haute densité après 2,5 mois d'entreposage

Propriété	Résultat
pH	4,2 à 4,3
Masse volumique apparente	1,02 à 1,03 g/mL
Viscosité	4,6 à 16,0 millipascals · seconde (25 °C)
Suspension en pourcentage	> 60 %
Essai au tamis humide	< maille 100
Miscibilité avec l'huile hydrocarbure	25 °C (30 min.) : non miscible

1.3 Mode d'emploi

Double Nickel 55 et Double Nickel LC doivent être appliqués sur les cultures précisées sur l'étiquette de manière préventive ou dès les premiers signes de maladie. Les doses d'application vont de 0,2 à 5,0 kg/ha dans le cas de Double Nickel 55 et de 1,0 à 25,0 L/ha dans celui de Double Nickel LC. Lorsque l'état de la maladie nécessite des traitements répétés, les délais des nouveaux traitements vont de 3 à 10 jours lorsque les produits sont appliqués en pulvérisation foliaire, et de 2 à 4 semaines lorsqu'ils sont appliqués aux sols.

1.4 Mode d'action

La souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens* colonise rapidement la surface des plantes et empêche le développement des microorganismes phytopathogènes en étant en compétition avec ceux-ci pour l'espace et les nutriments. Elle produit aussi différents métabolites protecteurs qui interfèrent directement avec la fonction cellulaire même des champignons pathogènes. La matière active est censément plus efficace lorsqu'elle est utilisée de manière préventive avant l'établissement des microorganismes pathogènes. Le Fungicide Resistance Action Committee classe la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* comme un fongicide du groupe 44, avec les autres fongicides à base de *Bacillus*. La résistance des agents phytopathogènes à ces fongicides est inconnue.

2.0 Méthodes d'analyse

2.1 Méthodes d'identification du microorganisme

On peut identifier l'espèce à laquelle appartient la souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens* en combinant des analyses de la morphologie des colonies sur gélose et des tests biochimiques. On peut également identifier la souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens* à la souche par une technique d'amplification aléatoire d'ADN polymorphe et par ribotypage, suivie d'une digestion par l'endonucléase de restriction PvuII.

2.2 Méthodes de détermination de la pureté de la souche

Les cultures mères de la souche de production sont maintenues dans de l'azote liquide et les cultures de travail sont entreposées à -80 °C, ou pour de brèves périodes sur une gélose inclinée. Toutes les cultures font l'objet d'analyses visant à déceler une contamination microbienne et à vérifier l'intégrité de l'agent microbien de lutte antiparasitaire (AMLA). Les pratiques visant à garantir la pureté et l'intégrité de la culture mère étaient adéquatement décrites dans la méthode de fabrication et dans le programme d'assurance de la qualité.

2.3 Méthodes de détermination de la teneur en microorganismes du produit destiné à la fabrication des préparations commerciales

La garantie de la matière active de qualité technique et des préparations commerciales est exprimée en nombre de spores par gramme (spores/g) ou par millilitre (spores/mL). Des données représentatives pour cinq lots de chaque produit (tel que le produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747, Double Nickel 55 et Double Nickel LC) ont été présentées. Les données représentatives comprenaient un dénombrement des spores.

2.4 Méthodes de détermination et de quantification des résidus (viables et non viables) du microorganisme (matière active) et de ses métabolites d'intérêt

Comme il est indiqué à la section 2.1, on peut identifier l'AMLA à la souche en utilisant une technique d'amplification aléatoire d'ADN polymorphe ou le ribotypage suivie d'une digestion par l'endonucléase de restriction PvuII. Cependant, aucune méthode n'est requise pour quantifier les résidus viables ou non viables de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, car il s'agit d'un microorganisme omniprésent dans la nature et qui a été isolé dans une grande variété de milieux. De plus, aucun signe de toxicité ou de maladie n'a été observé lorsque la bactérie a été administrée par voie orale à des rats.

2.5 Méthodes de détermination des impuretés d'intérêt dans le produit fabriqué

Les procédures d'assurance de la qualité qui seront employées pour limiter la contamination par des microorganismes pendant la fabrication du produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747, de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC sont acceptables. Ces méthodes comporteront l'ensemencement sur des géloses sélectives, et la stérilisation de tout l'équipement et de tous les milieux de culture. L'absence de *Bacillus anthracis* dans la matière active de qualité technique est confirmée par un essai biologique intrapéritonéal chez la souris.

Les lots de production ont été soumis à un contrôle à l'aide de méthodes de détection de microorganismes précis afin de déceler et de dénombrer les contaminants microbiens préoccupants, ce qui a permis d'établir l'absence d'agents pathogènes pour l'humain et de montrer que la contamination par des microorganismes était inférieure aux seuils fixés. Les normes de rejet de contaminants microbiens respectent les valeurs autorisées par l'ARLA, et elles permettent de garantir que les préparations commerciales ne renferment pas une concentration inacceptable de microorganismes pathogènes pour l'humain ou les animaux.

2.6 Méthodes de détermination de la stabilité à l'entreposage et de la durée de conservation du microorganisme

D'après les résultats d'une étude de stabilité à l'entreposage de deux mois, la matière active de qualité technique est stable pendant un an lorsqu'elle est entreposée à une température de 4 à 25 °C. De même, les préparations commerciales étaient stables lorsqu'elles étaient conservées entre 4 et 25 °C pendant un an d'après les résultats des études de stabilité réalisées sur 12 mois.

3.0 Effets sur la santé humaine et animale

3.1 Sommaire des données relatives à la toxicité et à l'infectivité

3.1.1 Études

L'ARLA a procédé à un examen détaillé des études toxicologiques présentées à l'appui de la demande d'homologation de la matière active de qualité technique (produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747) et des préparations commerciales Double Nickel 55 et Double Nickel LC.

Les études présentées afin de répondre aux exigences d'évaluation des risques sanitaires associés à la matière active de qualité technique (produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747) portaient sur les aspects suivants : toxicité/pathogénicité aiguë par voie orale, toxicité/pathogénicité aiguë par voie pulmonaire et infectivité aiguë par voie intraveineuse.

Dans une étude d'infectivité et de toxicité aiguës par voie orale, des groupes de jeunes rats Sprague-Dawley à jeun (14/sexe) ont reçu par voie orale une dose unique de 1×10^8 unités formatrices de colonies (UFC) de matière active de qualité technique/animal. Les animaux ont ensuite été observés pendant 21 jours et des sacrifices ont eu lieu aux jours 3, 7, 14 et 21 afin d'évaluer l'élimination. La mortalité a été nulle, et aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie ni aucun changement de poids corporel n'ont été constatés. L'AMLA a été détecté dans les matières fécales des rats traités au jour 1, mais il était éliminé au jour 14. Pendant la période d'essai, l'AMLA n'a pas été détecté dans les reins, le cerveau, les poumons, le foie, la rate, l'estomac, l'intestin grêle, le gros intestin, les ganglions mésentériques ou le sang. D'après les résultats de cette étude, le produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747 présente une toxicité très faible et n'est ni infectieux ni pathogène pour le rat par voie orale.

Dans une étude de pathogénicité et de toxicité aiguës par voie pulmonaire, des groupes de jeunes rats Sprague-Dawley (20/sexe) ont été exposés par voie intratrachéale à la matière active de qualité technique à raison de 1×10^7 UFC/animal. Les animaux ont ensuite été observés pendant 60 jours, et des sacrifices ont eu lieu aux jours 3, 7, 14, 21 et 60 afin d'évaluer l'élimination. La mortalité a été nulle, et aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie ni aucun changement de poids corporel n'ont été constatés. L'AMLA a été détecté dans les poumons, la trachée et la cavité nasale peu après l'administration et dans les ganglions lymphatiques bronchiques au jour 3. L'AMLA avait été éliminé de la cavité nasale le jour 7 et

des ganglions lymphatiques bronchiques au jour 60. Dans les poumons et la trachée, les concentrations d'AMLA ont diminué au cours de la période d'expérience, mais elles étaient de $9{,}6 \times 10^4$ UFC/g dans les poumons et de 70 UFC/g dans la trachée au jour 60. La bactérie étudiée n'a été détectée dans aucun autre organe ou tissu ou dans le sang pendant la période d'expérience. Comme l'AMLA est une bactérie résiliente formatrice de spores, il n'est pas surprenant de constater qu'il n'a pas été éliminé complètement des poumons et de la trachée. De plus, comme l'AMLA ne présentait pas de signe de prolifération chez les animaux d'essai, le produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747 n'est pas considéré infectieux ni pathogène par la voie pulmonaire. L'étude a aussi démontré que le produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747 présentait une toxicité très faible pour le rat par la voie pulmonaire.

Dans une étude d'infectivité aiguë par voie intraveineuse, des groupes de jeunes rats Sprague-Dawley (20/sexe) ont reçu la matière active de qualité technique à raison de 10^7 UFC/animal. Les animaux ont ensuite été observés pendant 60 jours, et des sacrifices ont eu lieu aux jours 0, 3, 7, 14, 21 et 60 afin d'évaluer l'élimination. La mortalité a été nulle, et aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie ni aucun changement de poids corporel n'ont été constatés. Peu après l'administration, l'AMLA a été détecté dans l'intestin grêle, le gros intestin, les ganglions inguinaux, les reins, le foie, la rate et le sang. L'AMLA avait été éliminé de l'intestin grêle, du gros intestin et des ganglions inguinaux au jour 21, du sang au jour 14 et des reins au jour 60. La quantité d'AMLA avait diminué dans le foie et la rate au cours de la période d'étude, mais l'AMLA était toujours détectable dans le foie ($\leq 8 \times 10^2$ UFC/g) et la rate ($\leq 4{,}9 \times 10^3$ UFC/g) au jour 60. Comme il a été mentionné ci-dessus, l'AMLA est une bactérie résiliente formatrice de spores, et il n'est donc pas surprenant qu'il n'ait pas été complètement éliminé du foie et de la rate. Comme l'AMLA n'a pas présenté de signe de prolifération, le produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747 n'est pas considéré comme une substance infectieuse ou pathogène pour le rat par la voie intraveineuse.

Les études présentées afin de répondre aux exigences relatives à l'évaluation du risque pour la santé que présentent les préparations commerciales, soit Double Nickel LC et Double Nickel 55, comprenaient divers études : toxicité par voie orale, toxicité par inhalation, toxicité par voie cutanée, irritation cutanée et irritation oculaire. Ces études ont été réalisées avec les formulations granulaires et liquides de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, soit CX-9030 et CX-9032, respectivement. Comme ces formulations étaient similaires, mais non identiques, aux formulations dont l'homologation est demandée, les résultats des études de toxicité ou d'irritation ont été examinés conjointement avec le potentiel de toxicité et d'irritation des agents de formulation non testés présents dans Double Nickel 55 et Double Nickel LC.

Dans une étude de toxicité aiguë par voie orale, trois jeunes rates Sprague-Dawley albinos ont reçu une dose unique par voie orale de CX-9030 (5×10^{10} spores/g) dans de l'eau désionisée à raison de 5 000 mg/kg de poids corporel (p.c.) et elles ont été observées pendant 14 jours. Aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie ni aucun changement de poids corporel n'ont été constatés. Il ressort des résultats de cette étude que le CX-9030 présente une toxicité très faible chez le rat par la voie orale.

Dans une étude de toxicité aiguë par inhalation, des groupes de jeunes rats Sprague-Dawley (5/sexe) ont été exposés par voie nasale seulement à un aérosol produit à partir de CX-9030 non dilué (5×10^{10} spores/g) à une concentration de 2,18 mg/L pendant quatre heures, puis ils ont été observés pendant 14 jours. Les signes cliniques constatés comprenaient l'horripilation et une diminution de l'activité, et ces deux signes n'étaient plus apparents au jour 3. La mortalité a été nulle, et aucune anomalie à la nécropsie ni aucun changement de poids corporel n'ont été observés. Il ressort des résultats de cette étude que le CX-9030 présente une toxicité très faible chez le rat par inhalation.

Dans une étude de toxicité aiguë par voie cutanée, des groupes de jeunes rats Sprague-Dawley (5/sexe) ont été exposés par voie cutanée à du CX-9030 (5×10^{10} spores/g; humidifié avec de l'eau désionisée pour obtenir une concentration de 1 mL/g d'eau) à raison de 5 050 mg/kg p.c. pendant 24 heures. La dose a été appliquée sur une surface représentant environ 10 % de la surface du corps. Les sujets ont été observés pendant 14 jours. La mortalité a été nulle, et aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie ni aucune irritation cutanée n'ont été observés pendant la période d'étude. Il ressort des résultats de cette étude que le CX-9030 présente une toxicité très faible chez le rat par la voie cutanée.

Dans une étude d'irritation cutanée primaire, trois jeunes lapins blancs néo-zélandais adultes (2 mâles, 1 femelle) ont été exposés par voie cutanée à 0,5 mL de CX-9032 non dilué (1×10^{10} spores/mL) et recouverts d'un pansement semi-perméable pendant 4 heures sur une surface d'environ 8 cm^2. La cote d'irritation cutanée des animaux a ensuite été déterminée au moyen du test de Draize après 1, 24, 48 et 72 heures. Aucune irritation cutanée n'a été observée pendant la période d'étude. Il ressort des résultats de cette étude que le CX-9032 n'est pas irritant pour la peau des lapins.

Dans une étude d'irritation oculaire, 0,1 mL de CX-9030 (5×10^{10} spores/g) a été instillé dans le sac conjonctival de l'œil droit de lapins néo-zélandais blancs pendant 24 heures (1 mâle, 2 femelles). Tous les yeux traités ont été rincés à l'eau désionisée pendant une minute juste après que l'on ait consigné l'observation à 24 heures. L'irritation a été évaluée au moyen du test de Draize après 1, 24, 48 et 72 heures. La taie (grades + à 1) a été constatée dans tous les yeux traités jusqu'à 24 heures. La participation de l'iris (grade 1) a été observée dans tous les yeux traités après 1 heure, mais elle s'était résorbée après 24 heures. Une rougeur conjonctivale (grades 1 à 3), un chémosis (grades 2 à 3) et un écoulement (grade 2) ont été observés dans tous les yeux traités après 1 heure. Une rougeur (grades 1 à 3), un chémosis (grades 1 à 2) et un écoulement (grades 1 à 2) étaient encore apparents après 24 heures. La fluorescéine a été observée dans tous les yeux traités après 24 heures. Tous les signes d'irritation oculaire s'étaient résorbés dans les 72 heures. D'après une cote d'irritation maximale de 20,8/110 (1 h), le CX-9030 est jugé légèrement irritant pour l'œil du lapin.

Dans une autre étude d'irritation oculaire primaire, 0,1 mL de CX-9032 non dilué (1×10^{10} spores/mL) a été instillé dans le sac conjonctival de l'œil droit de lapins néo-zélandais blancs (2 mâles, 1 femelle) pendant 24 heures. Tous les yeux traités ont été rincés à l'eau désionisée pendant une minute juste après que l'on ait consigné l'observation à 24 heures. L'irritation a été évaluée au moyen du test de Draize après 1, 24, 48 et 72 heures. Un écoulement conjonctival a été noté chez un animal après 1 heure. Tout signe d'irritation avait disparu après 24 heures. D'après cette étude, le CX-9032 n'est pas considéré comme un irritant oculaire et il est classé comme quasi non irritant pour l'œil d'après la cote d'irritation maximale de 0,7 (1 h).

Ces études sont résumées à l'annexe I, tableau 1.

3.1.2 Renseignements additionnels

Des justifications scientifiques ont été présentées pour étayer la demande d'exemption des études de sensibilisation cutanée pour Double Nickel 55 et Double Nickel LC. Dans la littérature scientifique publiée, on ne signale pas de réaction allergique chez l'humain résultant de l'exposition à *B. amyloliquefaciens*, et seuls quelques rapports font état d'une sensibilité chez des personnes exposées à une espèce étroitement apparentée, *Bacillus subtilis* (par exemple, exposition à des détergents à lessive contenant des enzymes provenant de *B. subtilis* et à de la poussière de bois contenant des spores de cette espèce). La demande d'exemption des études de sensibilisation cutanée a été acceptée, car l'ARLA considère que tous les AMLA ont un potentiel de sensibilisation.

Des fiches signalétiques ont été fournies pour tous les produits de formulation présents dans les préparations commerciales. Les produits de formulation non testés et présents dans les formulations proposées ne soulèvent pas de préoccupation importante sur les plans de la toxicité ou de l'irritation.

3.1.3 Déclarations d'incidents concernant la santé humaine ou animale

Depuis le 26 avril 2007, les titulaires sont tenus par la loi de déclarer à l'ARLA, dans les délais prévus, tout incident lié à un produit antiparasitaire, notamment les effets néfastes pour la santé et l'environnement. On trouvera des renseignements sur la déclaration des incidents dans la section Pesticides et lutte antiparasitaire du site Web de Santé Canada. Une recherche d'incidents liés à la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* a été effectuée. En date du 29 avril 2014, aucun incident mettant en cause la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* n'avait été signalé à l'ARLA ou à l'Environmental Protection Agency des États-Unis ni n'avait été versé dans la base de données California Pesticide Illness Query.

3.1.4 Analyse des risques

La base de données soumise à l'appui de l'homologation du produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D7647, de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC a été examinée du point de vue de la santé et de la sécurité humaines, et elle a été jugée suffisamment exhaustive pour permettre la prise d'une décision d'homologation.

Le produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D7647 était très faiblement toxique et n'était ni infectieux ni pathogène pour les rats lorsqu'il était administré par voie orale, pulmonaire ou intraveineuse.

Les formulations granulaires ou liquides contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* (soit CX-9030 et CX-9032) n'étaient ni toxiques ni irritantes pour la peau du lapin. La formulation liquide n'était pas irritante pour les yeux des lapins, tandis que la formulation granulaire était légèrement irritante pour les yeux. Les essais additionnels avec la formulation granulaire ont montré que le CX-9030 était très faiblement toxique pour le rat par les voies orale et pulmonaire. Les produits de formulation non testés présents dans Double Nickel 55 et Double Nickel LC ne soulèvent pas de préoccupation importante sur les plans de la toxicité et de l'irritation.

Même si aucun rapport faisant état d'une hypersensibilité chez des travailleurs n'a été répertorié, les mots-indicateurs « SENSIBILISANT POTENTIEL » figureront sur l'étiquette de la matière active de qualité technique et des préparations commerciales, parce qu'il est admis que tous les microorganismes peuvent produire des substances pouvant déclencher des réactions allergiques après une exposition répétée à de fortes concentrations.

Aucune étude plus poussée sur la toxicité chronique ou subchronique n'était nécessaire vu la très faible toxicité aiguë des préparations commerciales et vu l'absence de tout signe d'infectivité, de toxicité ou de pathogénicité de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* chez les animaux de laboratoire traités avec celle-ci dans le cadre d'essais de niveau I sur la toxicité et l'infectivité aiguës par voies orale, pulmonaire et intraveineuse.

Dans la littérature scientifique existante, il n'existe aucun rapport laissant croire que la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* pourrait avoir des effets néfastes sur le système endocrinien des animaux. D'après les données dont on dispose, la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* ne devrait avoir aucun effet néfaste sur le système endocrinien ou le système immunitaire.

3.2 Évaluation des risques liés à l'exposition en milieux professionnel et résidentiel et à l'exposition occasionnelle

3.2.1 Exposition en milieu professionnel et risques connexes

Lorsqu'elles respectent le mode d'emploi qui figure sur l'étiquette, les personnes qui appliquent, mélangent, chargent et manipulent le produit peuvent être exposées à celui-ci par voie cutanée, par voie oculaire et par inhalation, la principale voie d'exposition étant l'exposition par voie cutanée. Comme la peau intacte est une barrière naturelle qui empêche la pénétration des microorganismes dans le corps humain, l'absorption cutanée ne peut se produire que si la peau est coupée, si le microorganisme est un agent pathogène doté de mécanismes lui permettant de traverser la peau ou de l'infecter, ou si des métabolites pouvant être absorbés par la peau sont produits. La souche D747 de *B. amyloliquefaciens* n'est pas souvent mise en cause dans des infections de plaies cutanées, et elle ne produit aucun métabolite secondaire toxique connu. Rien

n'indique qu'elle pourrait traverser la peau intacte des personnes en bonne santé. De plus, les essais de toxicité avec le produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747 et des formulations liquides et granulaires de substitution contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* n'ont pas révélé de signe important de toxicité par les voies orale ou pulmonaire, et aucune toxicité cutanée n'est à prévoir. Les études présentées sur l'irritation cutanée et oculaire avec la formulation granulaire contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* faisaient état d'une légère irritation oculaire, mais pas d'une irritation de la peau. Des mises en garde figureront sur les étiquettes afin de prévenir l'utilisateur du risque d'irritation oculaire avec le produit granulaire. D'après les études présentées sur l'irritation oculaire et cutanée de la formulation liquide contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, une irritation oculaire et cutanée minimale est à prévoir avec la formulation liquide.

Même si la toxicité associée à l'exposition par voie cutanée et par inhalation découlant de l'utilisation proposée des préparations commerciales est minime, l'Agence présume que tous les microorganismes contiennent des substances qui peuvent induire des réactions d'hypersensibilité, et ce, quels que soient les résultats des études de sensibilisation. Par conséquent, toute personne qui manipule ou applique Double Nickel LC et Double Nickel 55 devra porter des gants imperméables, une chemise à manches longues, un pantalon long, des chaussures et des chaussettes ainsi qu'un masque filtrant antibrouillard ou un appareil de protection respiratoire muni d'un filtre N-95, P-95 ou R-95 approuvé par le NIOSH. En outre, il est interdit aux travailleurs non protégés de pénétrer dans les endroits fermés (notamment les serres) où Double Nickel 55 et Double Nickel LC ont été manipulés ou appliqué tant que le produit pulvérisé ne s'est pas asséché.

Les mises en garde, les restrictions et les mesures de réduction des risques qui figurent sur les étiquettes sont suffisantes pour protéger les utilisateurs de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC, et ces produits ne devraient pas poser de risque important en milieu professionnel.

3.2.2 Exposition en milieu résidentiel, exposition occasionnelle et risques connexes

Dans l'ensemble, l'ARLA ne s'attend pas à ce que l'exposition en milieu résidentiel et l'exposition des non-utilisateurs posent des risques inacceptables puisque la toxicité et la pathogénicité du produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747, de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC sont très faibles. L'ARLA suppose que les spécialistes de la lutte antiparasitaire respecteront les mises en garde figurant sur l'étiquette lorsqu'ils utiliseront Double Nickel 55 et Double Nickel LC. Par ailleurs, *B. amyloliquefaciens* est une espèce omniprésente dans l'environnement, et l'utilisation de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC ne devrait pas entraîner d'augmentation soutenue de l'exposition occasionnelle au-delà des concentrations naturelles. Par conséquent, le risque pour la santé des nourrissons et des enfants devrait être négligeable.

3.3 Évaluation de l'exposition par le régime alimentaire et des risques connexes

3.3.1 Aliments

Même si le profil d'emploi proposé pourrait entrainer une certaine exposition par le régime alimentaire aux résidus possiblement présents dans ou sur les denrées agricoles, le risque par le régime alimentaire devrait être négligeable et non préoccupant pour la population générale, y compris pour les nourrissons et les enfants, de même que pour les animaux puisqu'il a été établi que la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* n'est ni pathogène, ni infectieuse, ni toxique par voie orale à la dose maximale employée dans l'étude de niveau I sur la toxicité et l'infectivité aiguës par voie orale. L'AMLA ne produit pas de toxine connue pour affecter les mammifères. De plus, aucune étude plus poussée sur la toxicité subchronique ou chronique par le régime alimentaire n'était nécessaire en raison de la toxicité très faible de l'AMLA et de l'absence de signe d'infectivité, de toxicité et de pathogénicité chez les animaux de laboratoire traités dans le cadre des études de niveau I sur la toxicité et l'infectivité aiguës par voie orale et par voie pulmonaire. Il n'y a donc pas à s'inquiéter de risques chroniques associés à l'exposition alimentaire pour la population générale et pour les sous-populations vulnérables comme les nourrissons et les enfants.

3.3.2 Eau potable

Aucun risque pour la santé ne devrait découler de l'exposition à la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* par la consommation d'eau potable parce que l'exposition sera faible et qu'aucun effet nocif n'a été observé dans le cadre des essais de niveau I sur la toxicité et l'infectivité aiguës par voie orale. L'étiquette des préparations commerciales précise que les utilisateurs doivent éviter de contaminer les sources d'approvisionnement en eau d'irrigation et en eau potable et les habitats aquatiques lors du nettoyage de l'équipement ou de l'élimination des déchets. Elle indique aussi que les utilisateurs ne doivent pas laisser les effluents ou les eaux de ruissellement provenant des serres qui contiennent ce produit pénétrer dans les lacs, les cours d'eau, les étangs ou d'autres plans d'eau. Enfin, le traitement municipal de l'eau potable devrait réduire le transfert de résidus dans l'eau potable.

3.3.3 Risques aigus et chroniques associés à l'exposition par le régime alimentaire pour les sous-populations sensibles

Il n'est habituellement pas possible de calculer des doses aiguës de référence (DAR) et des doses journalières admissibles (DJA) pour prédire les effets aigus et à long terme des agents microbiens sur la population générale ou les sous-populations potentiellement vulnérables, particulièrement les nourrissons et les enfants. La méthode de la dose unique (danger maximal) dans les essais sur les AMLA est suffisante pour réaliser une évaluation générale raisonnable des risques si aucun effet néfaste significatif (en d'autres termes, aucun critère d'effet préoccupant en ce qui concerne la toxicité, l'infectivité et la pathogénicité associées à une exposition aiguë) n'est observé dans les essais de toxicité et d'infectivité aiguës. D'après tous les renseignements et toutes les données sur les risques dont elle dispose, l'ARLA conclut que la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* présente une toxicité très faible, qu'elle n'est ni pathogène, ni infectieuse

pour les mammifères, et que les nourrissons et les enfants ne sont probablement pas plus sensibles à cet AMLA que la population générale. Il n'existe donc pas d'effet de seuil préoccupant. Par conséquent, il n'est pas nécessaire d'exiger des études approfondies (à doses multiples) ou d'appliquer des facteurs d'incertitude pour tenir compte de la variabilité intra- et interspécifique, des facteurs de sécurité ou des marges d'exposition. Il n'y a pas lieu de prendre en considération les profils de consommation chez les nourrissons et les enfants, la sensibilité particulière de ces sous-populations aux effets de l'AMLA, notamment aux effets neurologiques associés à l'exposition prénatale et postnatale, ni les effets cumulatifs de l'AMLA et d'autres microorganismes homologués ayant le même mécanisme de toxicité. C'est pourquoi l'ARLA n'a pas utilisé de marge d'exposition (sécurité) pour évaluer les risques que présente la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* pour la santé humaine.

3.3.4 Exposition globale et risques connexes

D'après les données des essais sur la toxicité et l'infectivité et d'après d'autres renseignements pertinents contenus dans les dossiers de l'ARLA, il existe une certitude raisonnable qu'aucun effet néfaste ne découlera de l'exposition globale aux résidus de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* pour la population générale au Canada, y compris les nourrissons et les enfants, si les préparations commerciales sont employées conformément au mode d'emploi figurant sur leur étiquette. L'exposition globale comprend toutes les expositions alimentaires prévues (aliments et eau potable) et toutes les autres expositions non professionnelles (par voie cutanée et par inhalation) pour lesquelles il existe des données fiables. De plus, peu d'effets néfastes associés à l'exposition à d'autres isolats de *B. amyloliquefaciens* présents dans l'environnement ont été signalés. Même si l'utilisation de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC entraînait une augmentation de l'exposition à cette matière active, les risques pour la santé humaine ne devraient pas augmenter.

3.3.5 Limites maximales de résidus

Dans le cadre de l'évaluation préalable à l'homologation d'un pesticide, Santé Canada doit s'assurer que la consommation de la quantité maximale de résidus qui pourrait demeurer sur un aliment lorsqu'un pesticide est utilisé conformément au mode d'emploi de l'étiquette ne sera pas préoccupante pour la santé humaine. Une limite maximale de résidus (LMR) correspondant à cette quantité maximale est alors fixée, en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires*, conformément à la disposition de la *Loi sur les aliments et drogues* concernant la falsification des aliments. Santé Canada fixe les LMR en se fondant sur des données scientifiques afin de s'assurer que les aliments offerts au Canada sont sûrs.

Bacillus amyloliquefaciens est une bactérie ubiquiste qui est présente dans la plupart des milieux terrestres. Il est à prévoir que des résidus de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* seront encore présents au moment de la récolte des cultures vivrières traitées, car la matière active est constituée de structures résistantes en état de dormance (spores) qui sont beaucoup plus persistantes dans l'environnement que les cellules végétatives. L'ARLA a donc employé une démarche fondée sur le risque pour déterminer si une limite maximale de résidus était requise pour ce microorganisme. Aucun effet néfaste associé à l'exposition par le régime alimentaire n'a

une sensibilité à des populations de B. amyloliquefaciens naturellement présentes dans l'environnement, et aucun effet nuisible n'a été observé dans les études de toxicité et de pathogénicité aiguës par voie orale réalisées sur la souche D747. En outre, cette souche ne produit pas de toxine connue pour affecter les mammifères. De plus, la probabilité que des résidus contaminent des sources d'approvisionnement en eau potable est négligeable et n'est pas préoccupante. L'Agence a donc déterminé que l'établissement d'une LMR en vertu de la Loi sur les produits antiparasitaires n'est pas requis pour la souche D747 de B. amyloliquefaciens.

3.4 Effets cumulatifs

L'ARLA a examiné toutes les données existantes concernant les effets cumulatifs des résidus et d'autres substances ayant un mécanisme commun de toxicité, dont les effets cumulatifs sur les nourrissons et les enfants. Vu le large mode d'action de l'AMLA (comme la production de composés antifongiques), certains AMLA homologués, ainsi que des souches bactériennes présentes à l'état naturel, peuvent avoir un mode de toxicité commun avec la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*. L'interaction des résidus de la souche D747 avec des souches apparentées de cette espèce microbienne ne devrait pas entraîner d'effets cumulatifs.

4.0 Effets sur l'environnement

4.1 Devenir et comportement dans l'environnement

Bacillus amyloliquefaciens est une bactérie ubiquiste du sol qui colonise les racines, les feuilles et autres surfaces des plantes. *Bacillus amyloliquefaciens* est étroitement apparenté à *B. subtilis*. Ce n'est que très récemment que l'on a établi une distinction entre ces deux espèces. Dans des conditions environnementales défavorables, les espèces du genre *Bacillus* produisent des endospores qui leur permettent de résister à des conditions extrêmes de chaleur et de sécheresse, et cette qualité est un facteur important qui explique leur omniprésence dans l'environnement. Au fil du temps, la population de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* devrait revenir aux concentrations naturelles. Comme les spores de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* sont sensibles aux rayons ultraviolets (lumière solaire), elles ne devraient pas survivre dans la phyllosphère.

Vu sa capacité de produire des endospores, *B. amyloliquefaciens* peut survivre un certain temps dans l'eau. Cependant, sa survie dans un environnement aquatique naturel dépend des interactions complexes de plusieurs facteurs biologiques, chimiques et physiques. En particulier, le rayonnement solaire risque de détruire les endospores et les cellules végétatives de la bactérie dans les couches supérieures d'un système aquatique. Les cellules bactériennes devraient s'adsorber à la couche sédimentaire d'un environnement aquatique, mais il est peu probable que les spores puissent germer et se multiplier dans les sédiments.

Bien qu'il soit possible que les eaux de surface soient exposées au produit en raison de la dérive de pulvérisation après des applications au champ sur les sols et le feuillage développé, il est peu probable que cette dérive soit importante. Les concentrations de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* déposée dans les plans d'eau de surface en raison de la dérive ou du ruissellement devraient être égales ou inférieures aux concentrations naturelles.

4.2 Effets sur les espèces non ciblées

L'ARLA utilise une démarche à quatre niveaux pour l'étude des antiparasitaires microbiens dans l'environnement. Les études de niveau I sont des études de toxicité aiguë portant sur un maximum de sept grands groupes taxonomiques d'organismes non ciblés, qui sont exposés à une dose représentant un danger maximal ou à une concentration maximale de provocation de l'AMLA. La concentration maximale de provocation est généralement obtenue à partir de la quantité disponible d'AMLA ou de sa toxine que l'on prévoit après application à la dose maximale recommandée multipliée par un certain facteur de sécurité. Les études de niveau II sont des études du devenir dans l'environnement (persistance et dispersion), ainsi que des études de toxicité aiguë additionnelles de l'AMLA. Les études de niveau III sont des études de toxicité chronique, soit des études sur le cycle de vie et des études de toxicité approfondies, par exemple, pour établir la concentration létale à 50 % (CL_{50}) ou la dose létale à 50 % (DL_{50}). Les études de niveau IV sont des études expérimentales sur le terrain portant sur la toxicité et le devenir qui sont nécessaires pour déterminer s'il y a des effets nocifs dans des conditions d'utilisation réelles.

Le type d'évaluation des risques pour l'environnement effectuée sur les AMLA varie selon le niveau nécessaire d'après les résultats des essais réalisés. Pour de nombreux AMLA, les études de niveau I sont suffisantes pour évaluer les risques pour l'environnement. Les études de niveau I sont conçues pour simuler les scénarios les plus pessimistes, où les conditions d'exposition sont considérablement plus élevées que les concentrations prévues dans l'environnement. L'absence d'effets nocifs observés dans les études de niveau I est interprétée comme un risque minimal pour le groupe des organismes non ciblés. Toutefois, il deviendra nécessaire de procéder à des études des niveaux supérieurs si l'on observe des effets nocifs significatifs sur les organismes non ciblés lors des études du niveau I. Ces études fournissent des renseignements additionnels qui permettent à l'ARLA d'évaluer de manière plus précise les risques pour l'environnement. À défaut d'étude adéquate sur le devenir dans l'environnement ou d'étude sur le terrain, on peut effectuer une évaluation préliminaire des risques afin de déterminer si l'AMLA est susceptible de constituer un risque pour un groupe d'organismes non ciblés. L'évaluation préliminaire des risques fait appel à des méthodes simples, à des scénarios d'exposition prudents (par exemple, application directe à la dose maximale d'application) et à des paramètres d'évaluation sensibles. On calcule un quotient de risque en divisant l'exposition estimée par une valeur de toxicité appropriée (quotient de risque = exposition/toxicité) et on compare ensuite le quotient de risque au niveau préoccupant.

Si le quotient de risque de l'évaluation préliminaire est inférieur au niveau préoccupant, on considère que le risque est négligeable et ne nécessite aucune caractérisation additionnelle. Si le quotient de risque est supérieur ou égal au niveau préoccupant, on procède alors à une évaluation approfondie du risque pour préciser celui-ci. L'évaluation approfondie prend en considération des scénarios d'exposition plus réalistes (résultats des études sur le devenir dans l'environnement et des études sur le terrain). L'évaluation du risque peut se poursuivre d'une manière de plus en plus précise jusqu'à ce que le risque ait été bien caractérisé et qu'aucune autre précision ne puisse être obtenue.

6.2.1 Effets sur les organismes terrestres

Neuf études ont été présentées concernant les risques posés par la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* pour les organismes terrestres non ciblés. Ces études portaient sur des espèces aviaires non ciblées et sur des espèces d'arthropodes terrestres, dont deux études portant sur les abeilles, et une étude concernant diverses plantes non ciblées. En complément à ces études, des justifications étayant des demandes d'exemption ont été présentées au sujet des essais sur les arthropodes terrestres non ciblés et les abeilles. Des justifications étayant une demande d'exemption ont été présentées pour les mammifères sauvages.

Trois des études sur les arthropodes terrestres (*Typhlodromus pyri*, *Aphidius rhopalosiphi* et une étude sur *Apis mellifera*) ont été réalisées avec le CX-9030, une formulation granulaire différente contenant l'AMLA. Comme la formulation du CX-9030 n'était pas similaire à la formulation granulaire proposée aux fins d'homologation, les produits de formulation non testés présents dans Double Nickel 55 ont été évalués en fonction de leur potentiel de toxicité pour les arthropodes non ciblés, en plus des résultats des études.

La toxicité aiguë par voie orale de la matière active de qualité technique pour des colins de Virginie (*Colinus virginianus*) âgés de 28 semaines a été évaluée pendant 18 jours. Dans cette étude, une dose unique de ≥ 250 mg m.a./kg p.c. a été administrée aux oiseaux (10 oiseaux) par intubation orale. La mortalité a été nulle, et aucun signe de toxicité ni aucun effet apparent sur le poids corporel ou la consommation d'aliments n'ont été observés. La DL_{50} aiguë par voie orale sur 18 jours était supérieure à ≥ 250 mg m.a./kg p.c. Aucune étude de toxicité/pathogénicité par inhalation chez les oiseaux n'a été fournie. Cependant, une telle étude n'est pas requise pour appuyer l'homologation de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* d'après les résultats de l'étude par voie orale, et parce que la littérature scientifique publique ne faisait état d'aucun effet nocif pour les oiseaux attribuable aux autres souches de *B. amyloliquefaciens* ou à l'espèce étroitement apparentée *B. subtilis*.

La toxicité aiguë par le régime alimentaire de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* pour les larves de la punaise anthocoride prédatrice (*Orius insidiosus*, 50 insectes) a été évaluée pendant 12 jours. Les larves ont été exposées à la substance d'essai dans des flacons en verre pendant 24 heures à raison de 5×10^7 UFC/mL et elles ont été observées pendant 7 jours. Au jour 12, on a laissé un sous-échantillon d'adultes s'accoupler et on a surveillé la production des œufs. Le taux de mortalité corrigé au jour 7 était de 8,9 %. Il n'y avait pas de différence considérable dans le taux d'éclosion (soit le taux d'émergence des adultes au jour 10) entre le groupe d'essai et le

groupe témoin, et la production d'œufs (jour 12) était plus élevée dans le groupe exposé à la substance d'essai que dans le groupe témoin. Cependant, la période d'exposition de 24 heures est beaucoup plus courte que celle qui est recommandée dans les directives d'essai reconnues pour les études de toxicité des microorganismes par le régime alimentaire chez les insectes non ciblés (en d'autres termes, l'exposition par le régime alimentaire devrait durer au moins 21 jours), et les concentrations d'essai étaient inférieures aux exigences des directives. Néanmoins, l'étude est acceptable aux fins d'évaluation des risques seulement, à titre d'étude de toxicité, car elle ne portait pas sur les critères d'effet de l'infectivité et de la pathogénicité. La CL_{50} par voie alimentaire pendant 24 heures était supérieure à 5×10^8 UFC/mL.

La toxicité et la pathogénicité aiguës par contact et par le régime alimentaire de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* pour les protonymphes de l'acarien prédateur *Phytoseiulus persimilis* (50 insectes) ont été évaluées pendant 6 jours. Une application par pulvérisation unique sur ces insectes ainsi que sur l'habitat et la source alimentaire a été réalisée à raison de 2 mL/cm^2 (valeur nominale; l'équivalent de 1×10^9 UFC/cm^2). Aucune mortalité n'a été observée et tous les insectes ont atteint le stade adulte. Il n'y a pas eu d'effet important sur la production d'œufs. La durée de l'étude (période d'exposition et d'observation de 6 jours) est plus courte que ce qui est recommandé dans les directives d'essai reconnues pour les études de toxicité et de pathogénicité des microorganismes par le régime alimentaire chez les insectes non ciblés (soit la période d'exposition et d'observation de 21 jours). Néanmoins, l'étude est acceptable aux fins d'évaluation des risques, à titre d'étude de toxicité seulement, car elle ne portait pas sur les critères d'effet de l'infectivité et de la pathogénicité. La CL_{50} pour la toxicité aiguë par contact et par le régime alimentaire était supérieure à 5×10^8 UFC/mL.

La toxicité aiguë par le régime alimentaire de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* pour les larves de la chrysope (*Chrysoperla carnea*; 30 insectes) a été évaluée pendant 50 jours. Une dose unique de la substance d'essai de 5×10^8 UFC/mL (dose nominale) a été mélangée aux aliments. Aucun effet important n'a été observé sur la survie (jour 21) ou la production d'œufs des femelles adultes (jours 22-32), ni aucun comportement anormal pendant toute la durée de l'étude (jour 50). Même si la concentration d'essai était inférieure aux exigences des directives d'essai, l'étude est acceptable aux fins de l'évaluation des risques. La CL_{50} par le régime alimentaire sur 15 jours était supérieure à 5×10^8 UFC/mL.

La toxicité aiguë par contact du CX-9030 pour les guêpes parasites (*A. rhopalosiphi*; 40 guêpes) a été évaluée pendant 12 jours. Les insectes ont été exposés pendant 48 heures à une plaque de verre sur laquelle on avait pulvérisé une dose unique à raison de 15 kg/ha (dilution aqueuse non spécifiée). Il n'y a pas eu d'effet sur la mortalité (48 heures), ni sur la reproduction. La dose d'application létale à 50 % (DAL_{50}) et la concentration efficace à 50 % (CE_{50}) (fécondité) sur 48 heures étaient supérieures à 15 kg/ha.

La toxicité aiguë par contact du CX-9030 pour les acariens prédateurs (*T. pyri*, 100 insectes) a été évaluée pendant 14 jours. Les insectes ont été exposés pendant 14 jours à la substance d'essai sur une plaque de verre sur laquelle on avait au préalable pulvérisé une dose unique de 15 kg/ha (diluée dans l'eau à 75 g/L; essai de dose limite). Il n'y a pas eu d'effet sur la mortalité (jour 7) ni sur la reproduction (d'après le nombre cumulatif d'œufs par femelle au jour 14). La DAL_{50} et la CE_{50} (fécondité) sur 14 jours étaient supérieures à 15 kg/ha.

La toxicité aiguë par le régime alimentaire de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* pour des abeilles domestiques européennes adultes (*A. mellifera*, 80 abeilles) a été évaluée pendant 17 jours. La substance d'essai a été diluée dans du sucrose à 50 % pour obtenir une concentration de 1×10^9 UFC/mL, et elle a été offerte aux abeilles pendant 48 heures. Il n'y a pas eu d'effet sur la mortalité. La CL_{50} par le régime alimentaire sur 48 heures était supérieure à 1×10^9 UFC/mL. La portée de l'étude était cependant limitée, car la consommation d'aliments n'a pas été mesurée, et par conséquent on n'a pas pu confirmer les doses absorbées. En outre, la période d'observation a été plus courte que ce qui est recommandé pour les études d'infectivité, et l'étude n'a pas évalué l'infectivité ni les effets sublétaux. Néanmoins, l'étude est acceptable aux fins de l'évaluation des risques.

L'étude de toxicité aiguë par contact et par le régime alimentaire du CX-9030 pour les abeilles ouvrières adultes (*A. mellifera*) a été évaluée pendant 48 heures. Des abeilles domestiques (50 abeilles) ont été exposées au CX-9030 dans une solution de sucrose à 50 % p/v, lequel a été administré à raison de 446,63 µg/abeille pendant 6 heures (mesurée; essai de dose limite). Aucune mortalité n'a été signalée à la suite de l'exposition par le régime alimentaire. La DL_{50} par le régime alimentaire sur 48 heures était supérieure à 446,63 µg/abeille. Un autre groupe d'abeilles domestiques (50 abeilles) a été exposé à une dose unique en solution aqueuse de CX-9030 par application sur le thorax à raison de 20, 40, 80, 160 et 320 µg/abeille (dose nominale; 2 µL/abeille). La mortalité due à l'exposition par contact après 48 heures n'était pas dépendante de la dose. Des signes mineurs de toxicité ont été constatés chez quelques abeilles (groupes d'essai à dose faible et élevée seulement). La DL_{50} par contact sur 48 heures était supérieure à 320 µg/abeille. Un quotient de risque prudent a été calculé pour les abeilles (d'après une DL_{50} par le régime alimentaire > 446,63 µg/abeille). Comme le quotient de risque était inférieur au niveau préoccupant, on ne prévoit aucun effet nocif pour les abeilles attribuable à l'utilisation proposée de Double Nickel LC et de Double Nickel 55.

Même si la préparation commerciale CX-9030 utilisée pour les essais contient des produits de formulation différents de ceux qui sont présents dans Double Nickel 55, les résultats de l'étude ont été acceptés. Les produits de formulation non testés qui sont présents dans Double Nickel 55 ne sont pas préoccupants sur le plan toxicologique pour les arthropodes terrestres. En outre, les produits de formulation contenus dans les préparations commerciales liquides de Double Nickel LC ne devraient pas non plus être préoccupants sur le plan toxicologique pour les arthropodes terrestres non ciblés.

Des justifications scientifiques ont été présentées afin de compléter les études de toxicité pour les arthropodes terrestres et les abeilles domestiques. Les justifications contenaient des renseignements provenant de la littérature scientifique publique qui démontrent la faible

probabilité de production de toxines insecticides par l'AMLA. Un historique de l'utilisation d'autres membres du complexe *B. subtilis-amyloliquefaciens* dans des pesticides n'ayant fait l'objet d'aucun rapport décrivant des effets nocifs pour les arthropodes non ciblés a également été fourni.

Dans l'ensemble, les données toxicologiques relatives aux diverses espèces d'arthropodes terrestres, les renseignements publiés dans la littérature sur le pouvoir insecticide potentiel de *B. amyloliquefaciens* et sur son devenir dans l'environnement, et l'historique d'utilisation d'autres souches apparentées dans des biopesticides n'ayant fait l'objet d'aucun rapport d'effet néfaste ont été jugées acceptables pour évaluer le potentiel d'effets néfastes pour les arthropodes terrestres. D'après les renseignements disponibles, l'utilisation proposée de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC ne devrait pas avoir d'effet nocif pour les arthropodes terrestres non ciblés, dont les abeilles domestiques.

Une étude a été réalisée afin d'évaluer le risque d'effets nocifs de la souche D747 de *B. subtilis* (équivalente à la matière active de qualité technique) pour une variété de plantes non ciblées (maïs, blé, oignon vert, oignon, chou, chou pé-tsaï, épinard, soja et citrouille). Trente jours environ après la plantation, une dose foliaire de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* de $5,0 \times 10^8$ UFC/mL ou $5,0 \times 10^9$ UFC/mL a été appliquée à chaque type de plante (trois plantes/type), suivie d'une nouvelle application sept jours plus tard. Aucun effet n'a été observé chez les plantes soumises à l'essai pendant la période d'observation de sept jours. Cependant, la portée de l'étude était limitée, car sa durée (sept jours) était trop courte pour évaluer adéquatement le risque d'infectivité, et les paramètres végétaux standards (par exemple, pourcentage de germination, levée des plantules, poids/longueur des racines, poids/longueur des pousses) n'ont pas été surveillés. De plus, les concentrations d'essai (10^8-10^9 UFC/mL) étaient inférieures aux garanties figurant sur l'étiquette de la préparation commerciale dont l'homologation est proposée (1×10^{10} UFC/mL). Néanmoins, l'étude est acceptable aux fins de l'évaluation des risques, mais uniquement à titre d'étude de toxicité.

Aucune donnée de toxicité ou de pathogénicité n'a été prise en considération pour évaluer le risque d'effets nocifs pour les mammifères sauvages, les invertébrés non arthropodes et les microorganismes. Une justification scientifique a été présentée concernant le risque d'effets nocifs pour les mammifères sauvages. *Bacillus amyloliquefaciens* ne figure sur aucune liste reconnue d'agents pathogènes pour les mammifères. Étant donné que cette bactérie est omniprésente dans le sol, il est probable que les mammifères sauvages ont été exposés à des souches similaires. Les recherches dans la littérature scientifique publique (au moyen de PubMed) n'ont révélé aucun rapport faisant état d'effets nocifs pour les mammifères attribuables aux souches de *B. amyloliquefaciens*, bien que quelques rapports mentionnent des effets nocifs chez le bétail (par exemple, mastite du bovin) associés à *B. subtilis*. D'après les données présentées conformément à la section 3.1.1, il a été établi que la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* n'est ni toxique ni pathogène pour les mammifères de laboratoire par voies orale, pulmonaire et intraveineuse.

De plus, le potentiel d'effets néfastes pour les invertébrés non arthropodes et les microorganismes du sol n'ont pas été pas directement pris en compte. Toutefois, des essais supplémentaires sur les microorganismes non ciblés ne sont pas nécessaires, même si les préparations commerciales sont destinées à la répression des microorganismes nuisibles (soit des champignons phytopathogènes). Comme *Bacillus amyloliquefaciens* est un composant naturel de la microflore du sol, une éventuelle augmentation de l'exposition à l'AMLA ne devrait pas avoir d'effet environnemental ou économique négatif majeur sur les espèces microbiennes importantes ou sur les processus biogéochimiques médiés par les microorganismes. La souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens* ne devrait pas non plus nuire aux invertébrés non arthropodes (par exemple, les lombrics), car elle n'est apparentée à aucun agent pathogène connu des invertébrés non arthropodes.

D'après toutes les données et tous les renseignements disponibles sur les effets de la souche D747 de B. *amyloliquefaciens* sur les organismes terrestres non ciblés, il existe une certitude raisonnable que l'utilisation proposée de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC sur les cultures de serre et les cultures au champ ne présente aucun danger pour les oiseaux, les mammifères sauvages, les arthropodes (y compris les abeilles domestiques), les invertébrés non arthropodes, les microorganismes non ciblés et les plantes.

4.2.2 Effets sur les organismes aquatiques

Deux études ont été présentées afin d'évaluer les risques associés à la matière active de qualité technique pour les organismes aquatiques non ciblés, dont les poissons d'eau douce et les arthropodes aquatiques benthiques. Une justification a également été présentée à l'appui d'une demande d'exemption d'étude sur les plantes aquatiques.

Les études de toxicité sur la truite arc-en-ciel et les daphnies ont été réalisées avec le CX-9032. Ce produit est une formulation liquide contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*. Comme cette formulation n'est pas identique à la formulation dont l'homologation est proposée, les produits de formulation non testés qui sont présents dans la formulation proposée ont fait l'objet d'une évaluation visant à déterminer leur toxicité possible pour les organismes aquatiques non ciblés; les résultats des études ont aussi été examinés.

La toxicité et la pathogénicité aiguës du CX-9032 pour la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*; 20 poissons) ont été évaluées dans des conditions semi-statiques pendant 30 jours. Le CX-9032 a été ajouté à l'eau à cinq concentrations allant de $1,44 \times 10^{10}$ à $2,30 \times 10^{11}$ UFC/L. Des effets sur la survie et la croissance (longueur et poids) ont été observés. La CL_{50} à 30 jours était de $8,1 \times 10^{10}$ UFC/L et la concentration sans effet observé (CSEO) (croissance) était de $1,44 \times 10^{10}$ UFC/L. Aucun changement pathologique dû à l'exposition n'a été observé. Comme le quotient de risque pour les poissons d'eau douce était inférieur au niveau préoccupant, aucun effet nocif attribuable aux utilisations proposées de Double Nickel LC et de Double Nickel 55 n'est à prévoir pour les poissons d'eau douce.

La toxicité aiguë du CX-9032 pour les daphnies (*Daphnia magna*; 20 daphnies) a été évaluée dans des conditions semi-statiques pendant 21 jours. Du CX-0932 a été ajouté à un milieu de culture à cinq concentrations allant de $2,84 \times 10^8$ à $2,3 \times 10^{10}$ UFC/L. Il n'y a pas eu d'effet sur la mortalité. La CL_{50} était supérieure à $2,30 \times 10^{10}$ UFC/L. L'exposition prolongée a eu un effet sur la longueur du corps des parents et a inhibé la reproduction des générations parentales survivantes, ainsi que le moment du premier couvain. La plus faible concentration sans effet observé sur la reproduction et le moment du premier couvain était de $2,84 \times 10^8$ UFC/L. Comme le quotient de risque pour les arthropodes aquatiques benthiques était inférieur au niveau préoccupant, aucun effet nocif attribuable aux utilisations proposées de Double Nickel LC et de Double Nickel 55 n'est à prévoir pour les arthropodes aquatiques benthiques.

Les produits de formulation non évalués qui sont présents dans Double Nickel LC ne sont pas préoccupants en ce qui concerne la toxicité pour les organismes aquatiques. En outre, les produits de formulation présents dans la préparation commerciale sous forme de granulés, Double Nickel 55, ne devraient pas être préoccupants pour les organismes aquatiques non ciblés. Néanmoins, à titre de précaution générale appliquée à tous les pesticides qui ne sont pas destinés à être utilisés dans les systèmes aquatiques, l'étiquette interdira l'application directe de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC dans les habitats aquatiques, les estuaires ou les habitats marins, et enjoindra aux personnes qui manipulent le produit d'éviter de contaminer les eaux de surface en y éliminant les eaux ayant servi au rinçage de l'équipement.

Une justification scientifique a été présentée concernant la possibilité d'effets néfastes pour les plantes aquatiques. La souche D747 de *Bacillus amyloliquefaciens* est un antagoniste spécifique des champignons pathogènes pour les végétaux, et aucune utilisation en milieu aquatique n'est proposée. Dans une étude publiée sur des essais in vitro qui visaient à évaluer les effets d'une autre souche de *B. amyloliquefaciens* (souche FZB24) sur la lenticule bossue (*Lemma minor* ST), une réduction de la croissance a été signalée aux concentrations élevées de la souche, mais un effet de stimulation a été observé aux faibles concentrations. Compte tenu de l'utilisation terrestre proposée de Double Nickel LC et de Double Nickel 55, aucun effet nocif sur les plantes aquatiques n'est à prévoir. Aucun renseignement additionnel n'est requis.

Des recherches indépendantes dans la littérature scientifique publique (au moyen de PubMed) à l'aide de différents mots-clés n'ont révélé aucun rapport faisant état d'effets nocifs sur les poissons, les arthropodes aquatiques, les invertébrés non arthropodes aquatiques ou les plantes aquatiques.

D'après toutes les données et tous les renseignements disponibles sur les effets de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* sur les organismes aquatiques non ciblés et compte tenu des mesures de précaution devant figurer sur les étiquettes de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC, il existe une certitude raisonnable que l'utilisation proposée de ces produits sur les cultures de serre et les cultures au champ ne présente aucun danger pour les poissons, les arthropodes aquatiques, les invertébrés non arthropodes et les plantes aquatiques.

4.3 Déclarations d'incidents concernant l'environnement

Depuis le 26 avril 2007, les titulaires sont tenus par la loi de déclarer à l'ARLA, dans les délais prévus, tout incident lié à un produit antiparasitaire, notamment les effets néfastes pour la santé et l'environnement. On trouvera des renseignements sur la déclaration des incidents dans la section Pesticides et lutte antiparasitaire du site Web de santecanada.gc.ca/arla. Seuls les incidents dans lesquels un lien a été établi entre le pesticide et les effets (le lien de causalité doit être qualifié de « très probable », « probable » ou « possible » au Canada ou aux États-Unis) sont retenus aux fins de l'évaluation.

En date du 29 avril 2014, la base de données sur les déclarations d'incidents de l'ARLA et l'Ecological Incident Information System des États-Unis ne faisaient état d'aucun incident environnemental lié à des produits contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* utilisés comme pesticides.

5.0 Valeur

5.1 Examen des avantages

Double Nickel 55 et Double Nickel LC pourraient contribuer utilement aux programmes de lutte intégrée pour différentes cultures horticoles de grande valeur. En contrant le développement des maladies, ces biofongicides et biobactéricides peuvent contribuer à réduire la quantité totale de fongicides chimiques classiques requis au cours d'une saison. De plus, ils constitueraient une nouvelle option intéressante pour lutter de manière économique contre les maladies importantes dans la production biologique et les autres systèmes agricoles à faibles quantités d'intrants. Un examen des différents modes d'action d'autres produits figurant au tableau 3 de l'annexe I met en lumière la rareté des agents microbiens ou autres produits non classiques homologués pour la lutte contre les maladies figurant sur les étiquettes de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC. Pour bon nombre des maladies énumérées sur les étiquettes, les matières actives actuellement homologuées appartiennent toutes au même groupe de mode d'action.

5.2 Allégations acceptables et efficacité contre les organismes nuisibles

Les données sur l'efficacité provenant de 49 essais d'efficacité à petite échelle ont été examinées afin de déterminer la valeur de 16 allégations au sujet des maladies qui figureront sur les étiquettes de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC. Les essais ont été réalisés au champ et en serre à divers endroits dans différentes provinces canadiennes et dans d'autres pays, dont les États-Unis. D'après les renseignements disponibles sur la valeur, constitués surtout de données sur l'efficacité, les allégations de répression ou de répression partielle étaient étayées. Les données probantes issues des essais et l'application de ces données pour d'autres allégations par extrapolation ont été acceptées afin d'appuyer les diverses méthodes d'application. La liste complète des utilisations appuyées figure au tableau 4 de l'annexe I.

5.3 Effets nocifs ne concernant pas l'innocuité du produit

Aucune phytotoxicité découlant de l'application de divers produits contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, dont Double Nickel 55 et Double Nickel LC, n'a été observée lors des essais présentés. Rien n'indique que ces deux préparations commerciales auraient des effets néfastes ne concernant pas leur innocuité lorsqu'elles sont appliquées sur les cultures conformément aux modes d'emploi et aux restrictions figurant sur leurs étiquettes.

6.0 Considérations relatives à la politique sur les produits antiparasitaires

6.1 Considérations relatives à la Politique de gestion des substances toxiques

La Politique de gestion des substances toxiques est une politique du gouvernement fédéral visant à offrir des orientations sur la gestion des substances préoccupantes qui sont rejetées dans l'environnement. Elle prévoit la quasi-élimination des substances de la voie 1, substances qui répondent aux quatre critères précisés dans la politique, c'est-à-dire qu'elles sont persistantes (dans l'air, le sol, l'eau ou les sédiments), bioaccumulables, principalement anthropiques et toxiques, selon la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*.

Dans le cadre de l'examen, le produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747, Double Nickel LC et Double Nickel 55 ont été évalués conformément à la directive d'homologation DIR99-03[6] de l'ARLA et en fonction des critères de la voie 1. L'ARLA a tiré les conclusions suivantes :

- Le produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747 ne répond pas aux critères de la voie 1, puisque sa matière active est un organisme biologique et que les organismes biologiques ne sont pas assujettis aux critères utilisés pour définir la persistance, la bioaccumulation et les propriétés toxiques des produits antiparasitaires chimiques.
- Les préparations commerciales ne contiennent pas non plus de produits de formulation, de contaminants ou d'impuretés qui répondraient aux critères de la voie 1.

6.2 Produits de formulation et contaminants préoccupants pour la santé ou l'environnement

Dans le cadre de l'évaluation, les contaminants présents dans le produit technique et les produits de formulation ainsi que les contaminants présents dans la préparation commerciale sont recherchés dans la *Liste des produits de formulation et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou*

[6] DIR99-03, Stratégie de l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire concernant la mise en œuvre de la politique de gestion des substances toxiques.

d'environnement tenue à jour dans la Gazette du Canada[7]. Cette liste, utilisée conformément à l'avis d'intention NOI2005-01[8] de l'ARLA, est fondée sur les politiques et la réglementation en vigueur, notamment les directives DIR99-03 et DIR2006-02[9], et tient compte du *Règlement sur les substances appauvrissant la couche d'ozone* (1998) pris en application de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement* (substances désignées par le Protocole de Montréal). L'ARLA a tiré les conclusions suivantes :

- La matière active de qualité technique, la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, ne contient aucun produit de formulation préoccupant pour la santé ou l'environnement figurant dans la *Liste des produits de formulation et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement* (*Gazette du Canada*, partie II, volume 139, numéro 24, pages 2641 à 2643.

- Double Nickel 55 et Double Nickel LC ne contiennent aucun produit de formulation préoccupant pour la santé ou l'environnement figurant dans la *Liste des produits de formulation et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement* (*Gazette du Canada*, partie II, volume 139, numéro 24, pages 2641 à 2643).

L'utilisation de produits de formulation dans les produits antiparasitaires homologués est évaluée de manière continue dans le cadre des initiatives de l'ARLA en matière de produits de formulation et conformément à la directive d'homologation DIR2006-02.

---

7 *Gazette du Canada*, Partie II, volume 139, numéro 24, TR/2005-114 (2005-11-30), pages 2641 à 2643 : *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement, et arrêté modifiant cette liste dans la Gazette du Canada*, Partie II, volume 142, numéro 13, TR/2008-67 (2008-06-25) pages 1611 à 1613, Partie 1 – *Formulants qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*, Partie 2 – *Formulants allergènes reconnus pour provoquer des réactions de type anaphylactique et qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement* et Partie 3 – *Contaminants qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement*.

8 NOI2005-01, *Liste des formulants et des contaminants de produits antiparasitaires qui soulèvent des questions particulières en matière de santé ou d'environnement en vertu de la nouvelle Loi sur les produits antiparasitaires*.

9 DIR2006-02, *Politique sur les produits de formulation et document d'orientation sur sa mise en œuvre*.

7.0 Résumé

7.1 Méthodes d'analyse du microorganisme tel qu'il est fabriqué

Les données de caractérisation du produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747, de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC ont été jugées adéquates pour l'évaluation des risques que ces produits pourraient présenter pour la santé humaine et l'environnement. La matière active de qualité technique a été caractérisée, et les spécifications de la préparation commerciale ont été étayées par des analyses effectuées sur un nombre suffisant de lots. Les données sur la stabilité à l'entreposage étaient suffisantes pour appuyer une durée d'entreposage de 12 mois pour la matière active de qualité technique et les préparations commerciales à une température de 4 à 25 °C.

7.2 Santé et sécurité humaines

Les études sur la toxicité et l'infectivité aiguës et les autres renseignements pertinents présentés à l'appui de la demande d'homologation de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* ont été jugés suffisants pour rendre une décision d'homologation. Selon les renseignements présentés, le produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747 est très faiblement toxique et n'est ni pathogène ni infectieux lorsqu'il est administré par la voie orale, pulmonaire ou intraveineuse. Les formulations granulaires et liquides contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* (soit CX-9030 et CX-9032) n'étaient ni toxiques ni irritantes pour la peau. La formulation liquide n'était pas irritante pour les yeux, mais la formulation granulaire était légèrement irritante pour les yeux. Des essais additionnels réalisés avec la formulation granulaire ont montré qu'elle présente une toxicité très faible chez le rat par les voies orale et pulmonaire. Comme le produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747, Double Nickel 55 et Double Nickel LC sont considérés comme des sensibilisants potentiels, les mots-indicateurs « SENSIBILISANT POTENTIEL » doivent figurer dans l'aire d'affichage principale de l'étiquette des trois produits.

Lorsque le produit est manipulé conformément au mode d'emploi sur l'étiquette, les personnes qui mélangent, chargent, appliquent ou manipulent autrement les produits peuvent être exposées à ceux-ci par voie cutanée (principale voie d'exposition), par voie oculaire ou par inhalation.

Chez les personnes exposées de façon répétée à de grandes quantités de Double Nickel 55 ou de Double Nickel LC, une sensibilité respiratoire ou cutanée pourrait se manifester, car tous les microorganismes, dont la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, renferment des substances potentiellement sensibilisantes. Par conséquent, toute personne qui manipule ou applique Double Nickel 55 ou Double Nickel LC doit porter des gants imperméables, une chemise à manches longues, un pantalon long, des chaussures et des chaussettes ainsi qu'un masque filtrant antibrouillard ou un appareil de protection respiratoire muni d'un filtre N-95, P-95 ou R-95 approuvé par le NIOSH. En outre, il est interdit aux travailleurs non protégés de pénétrer dans les endroits fermés (notamment les serres) où Double Nickel LC ou Double Nickel 55 ont été manipulés ou appliqués tant que le brouillard ne s'est pas asséché.

Le risque pour la santé de la population générale, notamment les nourrissons et les enfants, découlant de l'exposition occasionnelle ou de l'exposition par voie alimentaire chronique devrait être négligeable et non préoccupant en raison du très faible profil de toxicité et de pathogénicité du produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747, de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC. Il n'est pas nécessaire de fixer une LMR pour la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*.

7.3 Risques pour l'environnement

Les essais sur les organismes non ciblés, les justifications scientifiques et les publications scientifiques pertinentes présentées à l'appui de la demande d'homologation du produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747, de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC ont été jugés suffisamment exhaustifs pour permettre la prise d'une décision au sujet du devenir et des effets de ces produits dans l'environnement. L'utilisation de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC, qui contiennent la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, ne devrait pas poser de risque pour les organismes non ciblés si le mode d'emploi figurant sur l'étiquette du produit est respecté.

Comme mesure de précaution générale, l'étiquette interdira l'application directe de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC dans les habitats aquatiques, les estuaires et les habitats marins, et elle avisera les personnes qui manipulent directement le produit de ne pas contaminer les eaux de surface en y déversant les eaux de rinçage de l'équipement.

Aucune autre étude sur le devenir dans l'environnement ou sur les effets sur les organismes non ciblés n'est requise pour le profil d'emploi proposé sur les cultures en serre et au champ.

7.4 Valeur

Les renseignements disponibles sur la valeur, qui consistaient essentiellement en données sur l'efficacité et en un examen des autres avantages, ont été jugés suffisants pour reconnaître la valeur de 16 allégations de répression de maladies fongiques et bactériennes relatives à deux nouvelles préparations commerciales contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*. Les allégations touchant les maladies comprennent diverses utilisations sur un éventail de cultures horticoles, dont les cucurbitacées, les légumes-fruits, les raisins, la laitue, les fruits à pépins, la pomme de terre et les fraises. L'homologation de ces nouveaux biofongicides offrira aux utilisateurs un outil de lutte biologique dont l'efficacité a été démontrée pour réduire l'impact d'un large éventail de maladies sur des plantes cultivées de grande valeur. Double Nickel 55 et Double Nickel LC peuvent être intégrés dans des programmes de lutte antiparasitaire durable. Ces produits seront particulièrement intéressants pour les producteurs de fruits et de légumes et les gestionnaires qui cherchent à éviter l'utilisation des fongicides synthétiques classiques.

8.0 Projet de décision d'homologation

En vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* et de ses règlements d'application, l'ARLA de Santé Canada propose l'homologation complète à des fins de vente et d'utilisation du produit technique *B. amyloliquefaciens* souche D747, de Double Nickel 55 et de Double Nickel LC, dont la matière active de qualité technique est la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, pour la répression ou la répression partielle de diverses maladies fongiques ou bactériennes touchant les cucurbitacées, les légumes-fruits, les raisins, la laitue, les fruits à pépins, la pomme de terre, le soja et les fraises.

Après l'évaluation des renseignements scientifiques à sa disposition, l'ARLA juge que, dans les conditions d'utilisation approuvées, le produit a une valeur et ne présente aucun risque inacceptable pour la santé humaine ou l'environnement.

Liste des abréviations

°C	degré Celsius
µg	microgramme
µL	microlitre
m.a.	matière active
ADN	acide désoxyribonucléique
AMLA	agent microbien de lutte antiparasitaire
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire
CE_{50}	concentration efficace à 50 %
CIM	cote d'irritation moyenne
CL_{50}	concentration létale à 50 %
cm	centimètre
CMEO	concentration minimale entraînant un effet observé
CMM	cote moyenne maximale
CSEO	concentration sans effet observé
DAL_{50}	dose d'application létale à 50 %
DL_{50}	dose létale à 50 %
g	gramme
h	heure
ha	hectare
kg	kilogramme
L	litre
LMR	limite maximale de résidus
m	mètre
mg	milligramme
min	minute
mL	millilitre
mm	millimètre
NC	non classifié
NIOSH	National Institute for Occupational Safety and Health (États-Unis)
p.c.	poids corporel
p/p	rapport en poids
p/v	poids par volume
SD	Sprague-Dawley
UFC	unité formatrice de colonie

Annexe I Tableaux

Tableau 1 Toxicité et infectivité du produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747, du Double Nickel 55 et du Double Nickel LC

Type d'étude	Espèces, souches et doses	Résultats	Commentaires	Référence
Toxicité/infectivité aiguës du produit technique *Bacillus amyloliquefaciens* souche D747				
Infectivité et toxicité aiguës par voie orale (étude de 21 jours)	Rat – SD 7/sexe, dose unique par voie orale dans une solution saline physiologique stérile, ~10^7 UFC/animal, sacrifiés aux jours 1, 3, 7, 14 et 21 2/sexe, groupe témoin ayant reçu le véhicule, sacrifiés au jour 21 Poids corporel mesuré aux jours 0 (avant l'administration de la dose), 7, 14 et 21	DL_{50} > 10^7 UFC/ animal	Aucune mortalité. Aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie et aucun changement de poids corporel n'ont été constatés. Élimination totale du produit au jour 14. **Toxicité très faible** **Non infectieux**	ARLA 2336339
Toxicité et infectivité pulmonaires aiguës (étude de 60 jours)	Rat – SD 20/sexe, ~10^7 UFC/animal dans une solution saline physiologique stérile, sacrifiés aux jours 3, 7, 14, 21 et 60 2/sexe, groupe témoin ayant reçu le véhicule, sacrifiés au jour 21 Poids corporel mesuré aux jours 0 (avant	DL_{50} > 10^7 UFC/ animal	Aucune mortalité. Aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie et aucun changement de poids corporel n'ont été constatés. L'[illegible] a été détecté dans la cavité nasale, les ganglions lymphatiques bronchiques, les poumons et la trachée. Au jour 60, le produit avait été éliminé du	ARLA 2336336

	l'administration), 7, 14, 21, 38, 42, 49 et 60		tous les organes sauf les poumons et la trachée. Un profil d'élimination a été observé dans les poumons et la trachée *au jour 60*. L'AMLA n'a pas été détecté dans le sang, les reins, la rate et le foie pendant la période d'essai. ***Toxicité très faible*** **Non infectieux**	
Infectivité *aiguë* par voie intraveineuse ***(étude de 60 jours)***	Rat – SD 20/sexe, injection intraveineuse dans une solution saline physiologique stérile, $\sim 10^7$ UFC/animal, sacrifices aux jours 0, 3, 7, 14, 21 et 60 2/sexe, groupe témoin ayant reçu le véhicule, sacrifice *au jour* 21 **Poids corporel mesuré aux jours 0, 7, 14, 21, 28, 35, 49, 56 et 60**	DL_{50} > $1,4 \times 10^8$ UFC/ animal	Aucune mortalité. Aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie ni aucun changement de poids corporel n'ont été constatés. L'AMLA a été détecté dans l'intestin grêle, le gros intestin, les ganglions inguinaux, les reins, la rate, le foie et le sang. L'élimination a été constatée dans l'intestin grêle, le gros intestin et les ganglions inguinaux *au jour* 21, dans le sang *au jour* 14 et dans les reins *au jour* 60. Au jour 60, il subsistait de petites quantités dans le foie et la rate. Un profil d'élimination a été constaté *au jour* 60. L'AMLA n'a pas été	ARLA 2336339

			détecté dans le cerveau pendant la période d'essai. **Toxicité très faible** **Non infectieux**	
Toxicité et infectivité aiguës de Double Nickel 55[1]				
Toxicité aiguë par voie orale (étude de 14 jours)	Rat – SD 3 femelles, dose unique par voie orale de CX-9030 dans de l'eau désionisée, 5 000 mg/kg p.c. Poids corporel mesuré aux jours 0 (avant l'administration de la dose), 7 et 14	DL_{50} > 5 000 mg/kg p.c.	Aucune mortalité. Aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie ni aucun changement de poids corporel n'ont été constatés. **Toxicité très faible**	ARLA 2336706
Toxicité aiguë par inhalation (étude de 14 jours)	Rat – SD 5/sexe, 2,18 mg/L de CX-9030 (contenant 5×10^{10} spores/g de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, par le nez seulement, 4 h) Poids corporel mesuré aux jours 0 (avant l'administration), 7 et 14	DL_{50} > 2,18 mg/L	Aucune mortalité. Aucune anomalie à la nécropsie ni aucun changement de poids corporel n'ont été constatés. Les signes cliniques comprenaient une diminution de l'activité et l'horripilation, qui avaient disparu au jour 3. **Toxicité très faible**	ARLA 2336707
Toxicité aiguë par voie cutanée	Rat – SD 5/sexe, exposition par voie cutanée pendant 24 heures, 5 050 mg CX-9030/kg p.c. (contenant 5×10^{10}	CIM = 0/8 CMM = 0/8 (24 h, 48 h et 72 h) DL_{50} > 5 050 mg/kg	La mortalité a été nulle et aucun signe clinique lié au traitement, aucune anomalie à la nécropsie ni aucun effet sur le poids corporel n'ont été	ARLA 2362265

	spores/g de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*), humidifié avec de l'eau désionisée à 1 g/mL d'eau; 10 % de la surface du corps. Observation pendant 14 jours	p.c.	constatés. **Toxicité très faible** **Non irritant**	
Irritation des yeux	Lapin blanc néo-zélandais 1 mâle; 2 femelles, exposition par voie oculaire pendant 24 heures, 0,1 mL de CX-9030/animal (contenant 5×10^{10} spores/g de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*), œil droit. Observation pendant 72 heures	CIM = 20,8/110 (1 h) CMM = 6,44 / 110 (24 h, 48 h et 72 h)	Opacité de la cornée (grades + à 1), observée dans 3/3 yeux pendant une période atteignant 24 h. Atteinte de l'iris (grade 1), observée dans 3/3 yeux à 1 h. Rougeur conjonctivale (grades 1-3), observée dans 3/3 yeux à 1, 24 et 48 h. Chémosis conjonctival observé dans 3/3 yeux à 1 h (grades 2-3) et à 24 h (grades 1-2). Écoulement observé dans 3/3 yeux à 1 h (grades 2) et 24 h (grades 1-2). Coloration par la fluorescéine observée dans 3/3 yeux à 24 h. Tous les effets oculaires s'étaient résorbés après 72 h, ou plus tôt.	ARLA 2336709

			Légèrement irritant	
Toxicité et infectivité aiguës de Double Nickel LC[2]				
Irritation cutanée	Lapin blanc néo-zélandais 2 mâles, 1 femelle, 4 heures d'exposition cutanée 0,5 mL CX-9032/ animal (contenant 10^{10} spores/mL de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*); 8 cm^2 Observation pendant 72 heures	CIM = 0/8 CMM = 0/8 (24 h, 48 h et 72 h)	Aucune irritation cutanée n'a été constatée. **Non irritant**	ARLA 2336808
Irritation des yeux	Lapin blanc néo-zélandais 2 mâles, 1 femelle, exposition par voie oculaire pendant 24 heures 0,1 mL CX-9032/ animal (contenant 10^{10} spores/mL de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*), œil droit Observation pendant 72 heures	CIM = 0,7/110 (1 h) CMM = 0/110 (24 h, 48 h et 72 h)	Écoulement conjonctival (grade 1) constaté après 1 h dans 1/3 yeux. Toute l'irritation oculaire avait cessé après 24 h. **Quasi non irritant**	ARLA 2336810

[1] Les essais de toxicité visant à étayer la demande d'homologation de Double Nickel 55 ont été réalisés avec *B. subtilis* CX-9030, une formulation granulaire contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* à une concentration de 5×10^{10} UFC/g.

[2] Les essais de toxicité visant à étayer la demande d'homologation de Double Nickel LC ont été réalisés avec *B. subtilis* CX-9032, une formulation liquide contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* à une concentration de 1×10^{10} UFC/mL.

Tableau 2 Toxicité chez les espèces non ciblées

Organisme	Voie d'exposition	Protocole	Effet significatif et commentaires	Référence
Organismes terrestres				
Vertébrés				
Oiseaux	Oral – Colins de Virginie (*Colinus virginianus*), âgés de 24 semaines	Les oiseaux (10) ont reçu une dose unique de CX-9025[1] par intubation orale à raison de 2 250 mg m.a./kg p.c. ($4,5 \times 10^{11}$ spores/kg p.c.) D'autres groupes d'oiseaux (10) ont reçu de l'eau traitée par osmose inverse, et ont servi de groupe témoin négatif. Les oiseaux ont été en observation pendant 14 jours.	Aucun signe de toxicité. Aucune mortalité. Par rapport aux témoins, il n'y avait pas d'effet apparent sur le poids corporel ou la consommation d'aliments. DL_{50} 14 jours > 2 250 mg m.a./kg p.c. **Toxicité très faible**	ARLA 2336341
	Pulmonaire/ injection	Aucune information n'a été soumise sur les risques possibles pour les espèces aviaires exposées par voie pulmonaire. *Bacillus amyloliquefaciens* n'est habituellement pas considéré comme pathogène pour les oiseaux, et il n'y avait pas de rapport dans la littérature scientifique faisant état d'effets nocifs sur les oiseaux. L'étude de toxicité pour les oiseaux, ayant utilisé la souche D747 de *B. amyloliquefaciens*, n'a fait état d'aucun signe de toxicité par la voie orale. Aucun autre renseignement n'est exigé dans le cas de l'évaluation des risques pour les oiseaux.		
Mammifères sauvages	Une justification scientifique a été présentée afin de demander l'exemption des essais, d'après les résultats des études sur la santé et la sécurité humaines, la très faible fréquence d'effets nocifs pour les mammifères dans la littérature scientifique publiée, la nature omniprésente de l'organisme et le fait que l'AMLA ne figure pas sur une liste reconnue d'agents pathogènes pour les mammifères. D'après les essais sur la			ARLA 2362267

Organisme	Voie d'exposition	Protocole	Effet significatif et commentaires	Référence
	santé et la sécurité humaines, il a été déterminé que la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* n'était pas toxique ou pathogène pour les mammifères par les voies orale, pulmonaire et intraveineuse. Aucune autre donnée n'est exigée pour l'évaluation du risque d'effets nocifs pour les mammifères sauvages non ciblés.			
Invertébrés				
Arthropodes				
Arthropodes terrestres	Régime alimentaire – Punaise anthocoride prédatrice (*Orius strigicollis*), larves	Les larves (50) ont été exposées à une dose de 5×10^8 UFC/mL de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* dans des flacons en verre pendant 24 heures. Un autre groupe de larves (50) a reçu de l'eau distillée et a servi de groupe témoin négatif. Le développement des larves a été surveillé; au jour 12, on a laissé les adultes s'accoupler et on a surveillé la production des œufs.	Aucun effet létal sur la survie des larves et aucun effet sublétal sur le développement ou la reproduction n'ont été observés. CL_{50} 24 h > 5×10^8 UFC/mL **Toxicité très faible**	ARLA 2336347[2]
Arthropodes terrestres	Régime alimentaire et contact – Acarien prédateur (*Phytoseiulus persimilis*), protonymphes	Pulvérisation unique de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* (5×10^8 UFC/mL) sur les protonymphes (50) et sur l'habitat et les aliments à raison de 2 mL/cm^2 (10^9 UFC/cm^2). Les insectes ont été exposés pendant 6 jours. D'autres groupes de	Aucun effet létal sur la survie des larves et aucun effet sublétal sur le développement ou la reproduction n'ont été observés. CL_{50} > 5×10^8 UFC/mL **Toxicité très faible**	ARLA 2336347[2]

Organisme	Voie d'exposition	Protocole	Effet significatif et commentaires	Référence
		protonymphes (50) ont reçu de l'eau distillée et ont servi de groupe témoin négatif. La survie, le développement et le comportement ont été surveillés pendant 4 jours. La production des œufs a été surveillée à partir des jours 5-6.		
Arthropodes terrestres	Régime alimentaire – Chrysope verte (*Chrysoperla carnea*), larves	Des larves (30) ont été exposées à la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* dans le régime alimentaire à raison de 5×10^8 UFC/mL pendant 15 jours. Un autre groupe de larves (30) a reçu des aliments non modifiés et a servi de groupe témoin négatif. La survie et le développement des larves ont été surveillés pendant 15 jours. La production des œufs a été surveillée jusqu'au jour 50.	Aucun effet létal sur la survie des larves et aucun effet sublétal sur la production des œufs (jours 22-32) n'ont été observés. CL_{50} 15 jours > 5×10^8 UFC/mL **Toxicité très faible**	ARLA 2336347[2]

Organisme	Voie d'exposition	Protocole	Effet significatif et commentaires	Référence
Arthropodes terrestres	Contact – Guêpe parasitoïde (*Aphidius rhopalosiphii*), adulte	Des guêpes parasitoïdes (40) ont été exposées pendant 48 heures à une plaque de verre sur laquelle on avait auparavant pulvérisé du CX-9030[3] (5×10^{10} UFC/g; dilué dans de l'eau) à raison de 15 kg/ha. Deux autres groupes de guêpes ont reçu du diméthoate (40 guêpes; 400 g/L) ou de l'eau désionisée (40 guêpes; 200 L/ha) afin de servir de groupes témoins positif et négatif, respectivement. La survie des guêpes a été surveillée pendant 48 heures. Après la période d'exposition, on a offert aux femelles des plants d'orge infestés de pucerons pendant 24 heures afin de surveiller la reproduction (parasitisation des pucerons) au jour 12.	Aucun effet létal sur la survie ni aucun effet sublétal sur la reproduction n'ont été observés. DAL_{50} 48 h > 15 kg/ha CE_{50} 48 h (fécondité) > 15 kg/ha **Toxicité très faible**	ARLA 2434669
Arthropodes terrestres	Contact – Acariens prédateurs (*Typhlodromus pyri*), protonymphes	Des acariens prédateurs (100) ont été exposés pendant 14 jours à une plaque de verre sur laquelle on avait auparavant	Aucun effet létal sur la survie ni aucun effet sublétal sur la reproduction n'ont été observés.	ARLA 2434670

Organisme	Voie d'exposition	Protocole	Effet significatif et commentaires	Référence
		pulvérisé du CX-9030[1] à raison de 15 kg/ha. D'autres groupes de protonymphes (100/groupe témoin) ont reçu du diméthoate (400 g/L) ou de l'eau désionisée afin de servir de groupes témoins positif et négatif, respectivement. La survie et la reproduction des acariens ont été surveillées pendant 14 jours.	DAL_{50} 14 jours > 15 kg/ha CE_{50} 14 jours (fécondité) > 15 kg/ha **Toxicité très faible**	
Arthropodes terrestres	Régime alimentaire – Abeilles domestiques (*Apis mellifera*), ouvrières adultes	Des abeilles (80) ont reçu la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* dans une solution de sucrose à 50 % à raison de 10^9 UFC/mL pendant 48 heures. Un autre groupe d'abeilles (80) a reçu une solution de sucrose à 50 % afin de servir de groupe témoin négatif (véhicule). La survie des abeilles a été surveillée pendant 21 jours.	Aucun effet létal sur la survie n'a été observé. CL_{50} 48 h > 10^9 UFC/mL **Toxicité très faible**	ARLA 2336351

Organisme	Voie d'exposition	Protocole	Effet significatif et commentaires	Référence
Arthropodes terrestres	Régime alimentaire et Contact – Abeilles domestiques (*Apis mellifera*), ouvrières adultes	Toxicité par le régime alimentaire – Des abeilles (50) ont été exposées à une dose de CX-9030[1] de 446,63 µg/abeille dans une solution de sucrose à 50 % pendant 6 heures. D'autres groupes d'abeilles ont reçu du diméthoate à (0,07, 0,09, 0,12 ou 0,17 µg m.a./abeille; 40 abeilles) ou à une solution de sucrose à 50 % (10 abeilles), afin de servir de groupes témoins positif et négatif, respectivement. Les abeilles ont été observées pendant 48 heures. Toxicité par contact – Des abeilles (50) ont reçu un traitement topique au moyen d'une solution aqueuse de CX-9030[1] à raison de 20, 40, 80, 160 ou 320 µg/abeille (2 µL/abeille). D'autres groupes d'abeilles ont reçu du diméthoate (0,10, 0,15, 0,23 ou 0,34 µg m.a./abeille; 40 abeilles) ou de l'eau du robinet	Toxicité par le régime alimentaire – Aucun effet létal sur la survie des abeilles ouvrières et aucun signe de toxicité n'ont été observés. DL_{50} 48 h par le régime alimentaire > 446,63 µg/abeille Toxicité par contact – La mortalité n'était pas dépendante de la dose. Des signes mineurs de toxicité ont été constatés chez certaines abeilles (dose élevée et dose faible seulement). DL_{50} 48 h par contact > 320 µg/abeille **Toxicité très faible**	ARLA 2434666

Organisme	Voie d'exposition	Protocole	Effet significatif et commentaires	Référence
		(10 abeilles) afin de servir de groupes témoins positif et négatif, respectivement. Les abeilles ont été observées pendant 48 heures.		
Arthropodes terrestres	Une justification scientifique a été fournie afin de compléter les essais de toxicité compte tenu de l'absence de preuve d'activité insecticide de *B. amyloliquefaciens* (y compris l'absence de preuve de production de toxine insecticide) dans la littérature scientifique publiée et l'historique établi d'utilisation d'autres membres du complexe *B. subtilis-amyloliquefaciens* dans des pesticides sans effet nocif signalé. Aucune autre donnée n'est requise dans le cas de l'évaluation des risques pour les arthropodes terrestres.			ARLA 2336348 ARLA 2336352
Non-arthropodes				
Invertébrés terrestres non arthropodes	Aucune information n'a été soumise sur les risques possibles pour les invertébrés terrestres non arthropodes. Les essais sont requis seulement pour les AMLA qui servent à lutter contre les invertébrés non arthropodes.			
Plantes				
Plantes	Diverses plantes : maïs, blé, oignon vert, oignon, chou, chou pé-tsai, épinard, soja et citrouille, 30 jours après la plantation	Une application foliaire de la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* a été faite sur chaque plante (3 réplicats/culture) à une dose de 5×10^8 UFC/mL ou de 5×10^9 UFC/mL, avec nouvelle application 7 jours plus tard. Les plantes ont été observées pendant 7 jours après la dernière application.	Aucun signe de phytotoxicité n'a été constaté chez les plantes.	ARLA 2336354
Microorganismes				
Microorganismes	Aucune demande d'exemption n'a été soumise à l'égard de la présentation de données d'essai. *Bacillus amyloliquefaciens*			

Organisme	Voie d'exposition	Protocole	Effet significatif et commentaires	Référence
	est un agent antibactérien et antifongique naturellement présent dans le sol. Toute augmentation de l'exposition à l'AMILA ne devrait pas avoir d'effet néfaste sur l'environnement ou des espèces microbiennes ayant une importance économique. Aucune autre donnée n'est exigée dans le cas de l'évaluation des risques pour les microorganismes.			
Organismes aquatiques				
		Vertébrés		
Poissons	Exposition du milieu aquatique – Truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*)	Des truites arc-en-ciel (20) ont été exposées à du CX-9032[a] pendant 30 jours dans des conditions semi-statiques à diverses concentrations : $1,44 \times 10^{10}$ UFC/L $2,88 \times 10^{10}$ UFC/L $5,75 \times 10^{10}$ UFC/L $1,15 \times 10^{11}$ UFC/L $2,30 \times 10^{11}$ UFC/L Un autre groupe de poissons (20) a été exposé à de l'eau de dilution seulement, afin de servir de témoin négatif. Toute mortalité, croissance et tout signe d'infection ont été surveillés chez les poissons pendant 30 jours.	Un effet statistiquement significatif sur la survie et la croissance (longueur et poids) a été constaté. Aucun changement pathologique n'a été observé. CL_{50} 30 jours = $8,1 \times 10^{10}$ UFC/L CSEO (croissance) = $1,44 \times 10^{10}$ UFC/L CMEO (croissance) $\geq 2,88 \times 10^{10}$ UFC/L **Toxicité très faible**	ARLA 2336346
		Invertébrés		
Arthropodes aquatiques	Exposition en milieu aquatique – Daphnies (*Daphnia magna*)	Des daphnies (20/groupe) ont été exposées à du CX-9032[a] dans des conditions semi-statiques à diverses concentrations :	Aucun effet sur la survie. Des effets sur la longueur du corps, sur la reproduction dans la génération	ARLA 2336353

Organisme	Voie d'exposition	Protocole	Effet significatif et commentaires	Référence
		2,84 × 10^8 UFC/L 8,52 × 10^8 UFC/L 2,56 × 10^9 UFC/L 7,67 × 10^9 UFC/L 2,3 × 10^{10} UFC/L Un autre groupe de daphnies (20) a été exposé au milieu de culture seul afin de servir de témoin négatif.	parentale survivante et sur le moment du premier couvain ont été observés. CL_{50} 21 jours > 2,30 × 10^{10} UFC/L CSEO (reproduction et moment du premier couvain) = 2,84 × 10^8 UFC/L **Toxicité très faible**	
Invertébrés aquatiques non arthropodes	Aucune information n'a été soumise concernant les risques possibles pour les invertébrés aquatiques non arthropodes. Des essais sont requis seulement pour les AMLA qui sont destinés à lutter contre les invertébrés aquatiques non arthropodes.			
Plantes				
Plantes aquatiques	Une justification scientifique a été présentée pour les plantes aquatiques, basée sur une étude publiée qui a fait état d'effets nocifs pour la lenticule bossue (*Lemna minor*) exposée à des concentrations élevées d'une autre souche de *B. amyloliquefaciens* (souche FZB24), ainsi qu'à un effet de stimulation à faibles concentrations. D'après le profil d'emploi terrestre proposé, les plantes aquatiques ne devraient pas subir d'effet néfaste. Aucune autre donnée n'est exigée pour l'évaluation des risques pour les plantes aquatiques.			ARLA 2536555

[1] La CX-9027 est un synonyme de la matière active de qualité technique *B. amyloliquefaciens* souche D747 (2 × 10^{11} spores/g).
[2] Trois études sur les insectes non ciblés (*O. [illegible]*, *P. persimilis* et *C. carnea*) ont été présentées dans un même document (ARLA [illegible]).
[3] La CX-9030 est une formulation granulaire contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* (5 × 10^{10} UFC/g).
[4] La CX-9032 est une formulation liquide contenant la souche D747 de *B. amyloliquefaciens* (1 × 10^{10} UFC/g).

Tableau 3 Groupes de modes d'action selon le Fungicide Resistance Action Committee pour les produits de remplacement actuellement homologués, pour utilisation en serre et/ou sur des cultures établies au champ (en date de décembre 2016)

Culture	Maladie	Groupes de mode d'action selon le Fungicide Resistance Action Committee pour les produits de remplacement homologués
Cucurbitacées	oïdium	3, 7, 7+11, 7+U6, 9+12, 11, 11+3, 44*, 46*, M2, M4, M5, P5*, NC (acide citrique + acide lactique*, poudre d'ail*, bicarbonate de potassium*, *Streptomyces lydicus* souche WYEC 108*)
	infections phytophthoréennes	33, 40+45, 43, 45, 44*
Légumes-fruits (groupe de culture 8)	pourriture grise	7, 44*, NC (*Gliocladium catenulatum* souche J1446*, *Trichoderma harzianum* Rifai souche KRL-AG2*)
	alternariose	3, 7, 44*
	infections phytophthoréennes	40+45, 45
Raisins	oïdium de la vigne	3, 7+11, 7+9, 11, 13, 44*, 46*, M2, M5+ 29, M4, P5*, U8, NC (poudre d'ail*, huile minérale*, bicarbonate de potassium*, *Streptomyces lydicus* souche WYEC 108*)
	pourriture grise	2, 7, 7+9, 7+11, 9, 9+12, 17, 44*, 46*, NC (*Aureobasidium pullulans* DSM 14940 et DSM 14941)
Laitue	mildiou	4+M3, 21, 28, 33, 40, 40+45, 43, 44*, 45, M3
	sclérotiniose	2, 7, 14, 44*, NC (*Coniothyrium minitans* souche CON/M/91-08*)
Fruits à pépins	feu bactérien	18, 24, 44*, M2, NC (*Aureobasidium pullulans* DSM 14940* et DSM 14941*, *Pantoea agglomerans* souche C9-1 + souche E325*)
Pomme de terre	moisissure blanche	3, 7, 7+9, 29, 44*
	alternariose	3, 4 + M3, 4+M5, 7, 7+9, 7+M5, 9, 11, 11+3, 11+27, 11+M2, 22, 22+M3, 40+ M5, 44*, M2, M3, M4, M5
	rhizoctone brun	3+ 7, 3+12, 4+M3, 7, 7+4, 11, 12, 12+M3, 44*, NC (saponines de *Chenopodium quinoa**)
Soja	moisissure blanche	3+11, 7, 7+11, 11, 29, 44*, NC (saponines de *Chenopodium quinoa**)

Culture	Maladie	Groupes de mode d'action selon le Fungicide Resistance Action Committee pour les produits de remplacement homologués
Fraises	oïdium	M2; 3; 7; 7+11; 11; 13; 46; P5*; NC (acide citrique + acide lactique*; *Streptomyces lydicus* souche WYEC 108*)
	pourriture grise (brûlure botrytique)	1; 2; 7+11; 7; 9; 17; 44*; M3; M4; M5; NC (*Streptomyces lydicus* souche WYEC 108*; *Trichoderma harzianum* Rifai souche KRL-AG2*)

* Agents microbiens ou autres pesticides non classiques.

Tableau 4 Liste des utilisations appuyées

Remarque : Les doses de Double Nickel 55 sont indiquées en kg/ha. Des doses équivalentes de Double Nickel LC sont présentées entre parenthèses en L/ha.

Allégation proposée	Commentaire
Oïdium (*Sphaerotheca fuliginea*, *Erysiphe cichoracearum*) des cucurbitacées avec applications foliaires de 0,5-2,5 kg/ha (2,5-12,5 L/ha) tous les 3 à 10 jours, pourvu que les conditions soient favorables à la maladie	Allégation de répression appuyée
Brûlure, flétrissure, et pourriture du col, du collet ou des racines des cucurbitacées causées par *Phytophthora capsici* avec applications au sol de 0,2-0,5 kg/ha (1,0-2,5 L/ha) entre la plantation et la maturité toutes les 2 à 4 semaines	Allégation de répression partielle des « infections phytophthoréennes au niveau du sol » appuyée
Pourriture grise (*Botrytis cinerea*) des légumes-fruits avec applications foliaires de 0,9-3,6 kg/ha (4,5-18 L/ha) entre la plantation et la maturité tous les 3 à 10 jours	Allégation de répression appuyée
Alternariose (*Alternaria solani*) des légumes-fruits avec applications foliaires de 0,5-2,0 kg/ha (2,5-10,0 L/ha) entre la floraison et l'apparition des fruits tous les 3 à 10 jours	Allégation de répression appuyée
Brûlure, flétrissure, et pourriture du col, du collet ou des racines des légumes-fruits causées par *Phytophthora capsici* avec des applications au sol de 0,1-0,5 kg/ha (0,5-2,5 L/ha) entre la plantation et la maturité toutes les 2 à 4 semaines	Allégation de répression partielle des infections phytophthoréennes au niveau du sol appuyée
Oïdium (*Erysiphe necator*) de la vigne avec applications foliaires de 0,5-2,0 kg/ha (2,5-10,0 L/ha) à partir du moment où les pousses mesurent 1-3 cm, 6-10 cm, 18-20 cm et à intervalles de 3 à 10 jours	Allégation de répression appuyée

Allégation proposée	Commentaire
Pourriture grise (*Botrytis cinerea*) des raisins avec applications foliaires de 0,6-5,0 kg/ha (3,0-25,0 L/ha) à la floraison, avant la formation complète des grappes, à la véraison, et avant la récolte à intervalles de 3 à 7 jours	Allégation de répression appuyée avec des intervalles d'application généraux de 3 à 10 jours correspondant à d'autres allégations relatives à *B. cinerea*
Mildiou (*Bremia lactucae*) de la laitue avec applications foliaires de 1,0-2,5 kg/ha (5,0-12,5 L/ha), à titre préventif à intervalles de 7 à 10 jours	Allégation de répression appuyée
Sclérotiniose (*Sclerotinia* spp.) de la laitue avec applications foliaires de 0,2-2,5 kg/ha [1,0-12,5 L/ha] entre la plantation et la formation de la pomme à intervalles de 3 à 7 jours, ou avec des applications au sol de 0,2-0,5 kg/ha (1,0-2,5 L/ha) à la plantation ou après	Allégation de répression appuyée pour les agents pathogènes *S. minor* et *S. sclerotiorum* avec des intervalles d'applications foliaires généraux de 3 à 10 jours correspondant à d'autres allégations relatives à *Sclerotinia*
Feu bactérien (*Erwinia amylovora*) des fruits à pépins avec applications foliaires de 1,0-1,5 kg/ha (5,0-7,5 L/ha) du début à la fin de la floraison à intervalles de 3 à 7 jours	Allégation de répression appuyée
Moisissure blanche (*Sclerotinia sclerotiorum*) de la pomme de terre avec applications foliaires de 0,1-2,5 kg/ha (0,5-12,5 L/ha) à titre préventif à intervalles de 3 à 7 jours	Allégation de répression appuyée avec une dose faible de 0,2 kg/ha (1 L/ha) au lieu de 0,1 kg/ha [0,5 L/ha] et des intervalles d'application généraux de 3 à 10 jours
Alternariose (*Alternaria solani*) de la pomme de terre avec applications foliaires de 0,5-2,0 kg/ha (2,5-10,0 L/ha) du début du recouvrement de la culture jusqu'à la formation des tubercules à intervalles de 3 à 10 jours	Allégation de répression appuyée
Rhizoctone brun (*Rhizoctonia solani*) de la pomme de terre avec une application au sol de 0,2-1,0 kg/ha (1,0-5,0 L/ha) à la plantation	Allégation de répression appuyée
Moisissure blanche (*Sclerotinia sclerotiorum*) du soja avec applications foliaires de 0,5-2,0 kg/ha (2,5-10,0 L/ha) du début de la floraison à la formation des gousses à intervalles de 3 à 10 jours	Allégation de répression appuyée
Oïdium (*Sphaerotheca macularis*, *Erysiphe* spp.) de la fraise avec applications foliaires de 0,5-2,5 kg/ha (2,5-12,5 L/ha) entre la floraison et la maturité du fruit à intervalles de 3 à 7 jours	Allégation de répression appuyée avec des intervalles allant jusqu'à 10 jours lorsque la pression exercée par la maladie est faible; *Erysiphe* spp. retiré à titre d'agent causal
Pourriture grise (*Botrytis cinerea*) de la fraise avec applications foliaires de 0,6-2,5 kg/ha (3,0-12,5 L/ha) entre la floraison et la maturité du fruit à intervalles de 3 à 7 jours	Allégation de répression appuyée avec des intervalles allant jusqu'à 10 jours lorsque la pression exercée par la maladie est faible

Références

A. Liste des études et des renseignements présentés par le titulaire

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations

2336327 2013, Product Characterization and Analysis, DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5, M2.6

2336328 2010, Bacillus subtilis var. amyloliquefaciens strain D747- Microbial Test Data Requirements, DACO: M2.10.1, M2.10.2, M2.10.3, M2.7.1, M2.7.2, M2.8, M2.9.2, M2.9.3 CBI

2336332 2010, Product Properties, DACO: M2.12 CBI

2420662 2011, Differentiation of Bacillus amyloliquefaciens strain, DACO: M2.14 CBI

2420664 1990, Biological Control of Crown and Root Rot and Bacterial Wilt of Tomato by Bacillus subtilis NB22, DACO: M2.14

2336688 2013, Product Characterization and Analysis, DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5, M2.6

2336690 2013, Five Batch Analysis of CX-9030, DACO: M2.9.2 CBI

2336691 2010, Analytical Method Validation for the determination of the active ingredient content in the formulated product Bacilssu subtilis CX-9030 and in aqueous dilutions, DACO: M2.9.2 CBI

2336692 2013, Accelerated storage stability of product Amylo-X WG, DACO: M2.11 CBI

2336693 2011, Storage Stability of Bacillus subtilis var. amyloliquefaciens strain 747 Wettable Granule (CS-9030), DACO: M2.11 CBI

2336695 2012, Physical -chemical properties of product Amylo-X WG (Intiail check point of Accelerated Storage and Shelf Life), DACO: M2.12 CBI

2336696 2013, Check point 6 months, Chemical -physical properties of product Amylo-X WG after two years shelf life, DACO: M2.12 CBI

2420655 2014, 5 Batch Analysis for the 3 DN Formulations to confirm chem/phys, DACO: M2.14 CBI

2420656 2014, Material Safety Data Sheets for the Inerts, DACO: M2.14

2458505 2014, Response to Request for clarification of equivalency of formulations, DACO: M2.14 CBI

2458506 2014, 70051-107 CX-9032 Alternate, DACO: M2.14 CBI

2336793 2013, Product Characterization and Analysis, DACO: M2.1, M2.2, M2.3, M2.4, M2.5, M2.6 CBI

2336795 2010, Bacillus subtilis var. amyloliquefaciens strain D747- Microbial Test Data Requirements, DACO: M2.10.1, M2.10.2, M2.10.3, M2.7.1, M2.7.2, M2.8, M2.9.2, M2.9.3 CBI

2336796 2012, Bacillus subtilis var. amyloliquefaciens strain D747- End Use Product CX-9032, DACO: M2.11 CBI

2336800 2010, Product Properties, DACO: M2.12 CBI

2420647 2014, CSF CX-9032 Basic and Alternate, DACO: M2.14 CBI

2458505 2014, Response to Request for clarification of equivalency of formulations, DACO: M2.14 CBI

2458506 2014, 70051-107 CX-9032 Alternate, DACO: M2.14 CBI

2.0 Santé humaine et animale

2336706 2010, Acute Oral Toxicity Study (UDP) in Rats, DACO: M4.9
2336707 2010, Acute Inhalation Toxicity Study in Rats, DACO: M4.9
2336709 2010, Acute Eye Irritation Study in Rabbits, DACO: M4.9
2362265 2010, Acute Dermal Toxicity Study in Rats, DACO: M4.4
2362266 2013, Summary, DACO: M4.5.1
2336802 2013, Summary, DACO: M4.1
2336808 2010, Acute Dermal Irritation Study in Rabbits, DACO: M4.5.2
2336809 Request for no further testing, DACO: M4.6, M4.9
2336810 2010, Acute Eye Irritation in Rabbits, DACO: M4.9
2336333 2013, Summary, DACO: M4.1
2336334 2013, Summary, DACO: M4.2.1
2336335 2003, D747 Single Oral Administration Toxicity Study in Rats, DACO: M4.2.2
2336336 2003, D747 Single Endotracheal Administration Toxicity Study in Rats, DACO: M4.2.3
2336337 2013, Summary, DACO: M4.3.1
2336339 2003, D747 Single Intravenous Administration Toxicity Study in Rats, DACO: M4.3.3

3.0 Effets sur l'environnement

2336340 2013, Summary, DACO: M9.1
2336341 2010, An Acute Oral Toxicity Study with the Northern Bobwhie, DACO: M9.2.1
2336343 2011, Avian Oral Toxicity/Pathogenicy - Addendum - Request for No Further Testing, DACO: M9.2.1
2336346 2004, Freshwater Fish Toxicity/Pathogenicity, DACO: M9.4.1
2336347 2003, Non-Target Insect Testing, DACO: M9.5.1
2336348 2011, Non-Target Insect Testing - Addendum - Request for No Further Testing, DACO: M9.5.1
2336351 2003, An Acute Dietary Pathogenicity and Toxicity Study with the Honey Bee, DACO: M9.5.1
2336352 2011, Acute Dietary Pathogenicity and Toxicity Study with the Honey Bee - Addendum - Request for No Further Testing, DACO: M9.5.1
2336353 2011, Non-Target Insect Testing - Request for no further testing, DACO: M9.5.2
2336354 2004, Non-Target Plant Testing, DACO: M9.8.1
2336355 Aquatic Plants - Explanation of no data, DACO: M9.8.2
2336715 Honey bee study summary Amylo-X (CX-9030) , DACO: M9.5.1
2362267 2013, Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum strain D747 - Annex B.9 Ecotoxicology data and assessments of risk for non-target species (OECD IIM 8, IIIM 10), DACO: M9.3
2434664 2014, Response to Clarification Letter, DACO: M9.0
2434667 2004, Evaluation of the effects of biocontrol agents (BCA) on the beneficial Amblyseius andersoni and the paraside Tetranychus urticae mites, DACO: M9.5.1

2434668 2004, Effectiveness of honey bees in delivering the biocontrol agent Bacillus subtilis to blueberry flowers to suppress mummy berry disease, DACO: M9.5.1

2434669 2010, CX-9030 Toxicity of the Aphid Prasitoid, Aphidius rhopalosiphi (Hymenoptera, Braconidae) in the Laboratory (Limit Test), DACO: M9.5.1

2434670 2010, CX-9030 Toxicity of Predatory Mite, Typhlodromus pyri Scheuten (Acari, Phytoseiidae) in the Laboratory (Limit test), DACO: M9.5.1

2434672 2009, A laboratory evaluation to determine the compatibility of microbiological control agents with teh pollinator Bobmus terrestris, DACO: M9.5.1

2434673 2011, Integrating biocontrol agents in strawberry powdery mildew control strategies in high tunnel growing systems, DACO: M9.5.1

2454209 2014, Potentiall of Osmia cornuta in a Carrier of Antagonis Bacteria in Biological Control of Fire Blight: a Comparison of Apis mellifera (2006), DACO: M9.5.1

2454210 2014, Apis mellifera and Osmia cornuta as carriers for the secondary spread of Bacillus subtilis on apple flowers (2009), DACO: M9.5.1

4.0 Valeur

2420342 2014, Value Assessment, DACO: M10.1, M10.2, M10.3, M10.4, M10.5

2336725 Efficacy of CX-9030, CX-9080, AND CX-9090 for control of *Bremia lactucae* on Lettuce, DACO: M10.2.2

2336726 2010, CX-9030 For Control Of Powdery Mildew Of Grape When Applied Alone And In Combination With Cueva And Compared To CX-9080., DACO: M10.2.2

2336727 Efficacy of CX-9030 and CX-9032 for control of *Sclerotinia minor* in Lettuce, DACO: M10.2.2

2336728 2010, Botrytis Grape Certis, DACO: M10.2.2

2336729 2010, Evaluation of fungicide programs for control of *Botrytis* bunch rot of grapes, DACO: M10.2.2

2336730 2011, Potato Disease Trial, DACO: M10.2.2

2336731 Estudio De Evaluacion De La Efectividad Biolgica DE CX-9030 (*Bacillus subtilis* var. amyloliquefaciens cepa D-747) Para El Control De Tizon Temprano (*Alternaria solani*) En Tomate., DACO: M10.2.2

2336732 Evaluation of biofungicide against powdery mildew of table grapes - English Summary, DACO: M10.2.2

2336733 Evaluation of biofungicide against powdery mildew of table grapes - Spanish, DACO: M10.2.2

2336734 2012, Evaluation of CX-9032 and CX-9030 for control of powdery mildew of squash, DACO: M10.2.2

2336735 2012, Study Evaluating The Effectiveness Of Biological CX-9032 (*Bacillus subtilis* var. amyloliquefaciens strain D-747) For Control Of Soilborne Pathogens (*Phytophthora* sp. and/or *Rhizoctonia solani*) IN STRAWBERRY., DACO: M10.2.2

2336736 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of botrytis on GRAPEVINES, DACO: M10.2.2

2336737 2010, Campagne Fongicide - Vigne Efficacite *Botrytis cinerea* - Not in English, DACO: M10.2.2

2336738 Efficacy Of CF-290909 At Different Doses Against *Botrytis cinerea* On Grapevine, DACO: M10.2.2

2336739 Efficacy Trial *Botrytis Cinerea*/Grape Vine, DACO: M10.2.2

2336740 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of botrytis on Grapevines, DACO: M10.2.2

2336741 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of *Sclerotinia* on Lettuce, DACO: M10.2.2

2336742 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of botrytis on Aubergine (PROTECTED), DACO: M10.2.2

2336743 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of *Sclerotinia*/*Botrytis* on Lettuce., DACO: M10.2.2

2336744 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of botrytis on Table Grapes, DACO: M10.2.2

2336745 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of botrytis on Grapes, DACO: M10.2.2

2336746 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of botrytis on Tomato, DACO: M10.2.2

2336747 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of botrytis on Table GRAPES, DACO: M10.2.2

2336748 Efficacy and Selectivity Study of the formulation CF-290909 for the control of *Sclerotinia* on lettuce (open field), DACO: M10.2.2

2336749 2010, Efficacy evaluation of CX 9030 and Serenade Max against grey mould (*Botrytis cinerea*) and sour rot on grapvine, DACO: M10.2.2

2336750 2010, Efficacy evaluation of CX 9030 and Serenade Max against grey mould (*Botrytis cinerea*) and sour rot on grapvine, DACO: M10.2.2

2336751 2009, Efficacy evaluation of CX 9030 against downy mildew (*Bremia lactucae*) and *Sclerotinia* spp. on lettuce, DACO: M10.2.2

2336753 Efficacy of CX-9030 against *Botrytis cinerea* on greenhouse tomato cultivation, DACO: M10.2.2

2336754 2011, Experimental Field Trial to Evaluate the Efficacy of Serenade Max and CX-9030 for the control of *Botrytis* spp. on protected tomato in Sicily Italy, DACO: M10.2.2

2336755 Efficacy evaluation of CX 9030 against Fire Blight on Apple, DACO: M10.2.2

2336757 Efficacy evaluation of CX 9030 against Fire Blight on Pears, DACO: M10.2.2

2336758 Efficacy evaluation of CX 9030 against Fire Blight on Pears, DACO: M10.2.2

2336759 2012, Trials Against Grey Mould on Table Grape Final Report, DACO: M10.2.2

2420343 2014, 2010 IR-4 Evaluation of CX-9030 for management of powdery mildew on cantaloupe - 2010 trial, DACO: M10.2.2

2420344 2014, CER-2010-008 Efficacy of CX-9030, CX-9080 and CX-9090 for control of *Sphaerotheca macularis* and *Botrytis cinerea* in Strawberry, DACO: M10.2.2

2420346 2014, CER-2011-047 Soil Application for Control of *Phytophthora* Root Rot in Pepper, DACO: M10.2.2

2420349 2014, CER2011-051 Official Trails of CS-9030 for Registration in Mexico, DACO: M10.2.2

2420351 2014, CER-2011-093 Evaluation of Double Nickel plus Cueva for powdery mildew of squash., DACO: M10.2.2

2420352 2014, CER-2012-0006 Evaluation of CX-9032 for control of *Phytophthora* wilt in chili peppers, DACO: M10.2.2

2420353 2014, CER-2012-014 Evaluate Efficacy of CX-9032 and Soilgard 12G against *P capsici* in Peppers, DACO: M10.2.2

2420354 2014, CER-2012-037 Evaluation of CX-9032 (Double Nickel LC) for control of *Phytophthora* wilt in squash, DACO: M10.2.2

2420356 2014, CER2012-097 Evaluation of CX-9032 for control of *Rhizoctonia* in potato, DACO: M10.2.2

2420358 2014, CEU-2011-084 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of *Botryotinia fuckeliana* on Strawberry, DACO: M10.2.2

2420359 2014, CEU-2011-085 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of *Botryotinia fuckeliana* on Strawberry, DACO: M10.2.2

2420360 2014, CEU-2011-085 Efficacy and selectivity of CX-9030 for the control of *Botrytis* in protected strawberry, DACO: M10.2.2

2420361 2014, CEU-2012-170 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of Powdery mildew on Strawberry, DACO: M10.2.2

2420362 2014, CEU-2012-171 Efficacy and selectivity of CF-290909 for the control of Powdery mildew on Strawberry, DACO: M10.2.2

2420363 2014, CEU-2012-172 Efficacy and Selectivity of Several Bacillus Sp.Formulations on the Control of Powdery Mildew on Protected Cucumber. Spain 2012, DACO: M10.2.2

2420364 2014, ETL-2010-162 Evlaluation of a Range of Non-Residual Products for Pre-Harvest Botrytis Control Grapes, DACO: M10.2.2

2420365 2014, ETL-2011-086 An Evaluation of a Range of Non-Residual Products for the Control of Botrytis in Wine Grapes During the Pre-Harvest Period, DACO: M10.2.2

2420374 2014, IBI-2011-123 Efficacy evaluation of CX 9030 against grey mould (*Botrytis cinerea*) on strawberry, DACO: M10.2.2

2420378 2014, IBI-2011-129 Efficacy evaluation of CX 9030 against bacterial diseases (*Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp.) on Lettuce, DACO: M10.2.2

2336760 Phytotoxicity and phytopathogenicity, DACO: M10.3.1

2336761 Effects on MPCA performance, DACO: M10.3.2.1

2336762 Profile of the EP, DACO: M10.4.1

2336763 Nature and economics of disease problem in Canada, DACO: M10.4.2

2336764 Current crop protection tools and practices, DACO: M10.4.3

2336765 Contribution to IPM strategies and practices, DACO: M10.4.4

B. Autres renseignementsconsidérés

i) Renseignements publiés

1.0 La matière active, ses propriétés et ses utilisations

2122452 Anne Sietske de Boer and Broge Diderichsen, On the safety of Bacillus subtilis and B. amyloloiquefaciens: a review, DACO: M2.7.2, M4.9, M9.3

2419023 2010. International Journal of Food Microbiology (136) 318-325, Toxinogenic and spoilage potential of aerobic spore-formers isolated from raw milk, DACO: M2.0, M4.0

2419025 Recurrent Septicemia in an Immunocompromised Patient Due to Probiotic Strains of Bacillus subtilis, DACO: M2.0, M4.0

2419055 1990, The New England Journal of Medicine, An Investigation of the Cause of the Eosinophilia-Myalgia Syndrome Associated With Tryptophan Use, DACO: M2.0, M4.0, M9.3

2419230 1987, International Journal of Systematic Bacteriology, Jan. 1987, p. 69-71, Bacillus amyloliquefaciens sp. nov. nom. rev., DACO: M2.0, M4.0, M9.0

2452241 Delcambe, L., et al, Structure of Iturin and Iturin-like Substances - 569th Meeting, Sussex, Biochemical Society Transactions, Vol. 5, DACO: M2.0, M4.0

2452243 2013, Zhao, X., et al, Optimization of Antifungal Lipopeptide Production from Bacillus sp. BH072 by Response Surface Methodology, Journal of Microbiology, DACO: M2.0, M4.0

2452408 2002, Nicholson. B amyloliquifaciens D747, DACO: M2.0, M9.0

2452984 2005, Yamamoto S. and S. Harayama. PCR amplification and direct sequencing of gyrB genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of Pseudomonas putida strains. Appl Environ Microbiol. 61:3: 1104-1109, DACO: M2.0

2452985 2007, Wang et al, Comparison of gyrB gene sequence, 16SrRNA gene sequences, and DNA-DNA hybridization in the Bacillus subtilis group. Int. J. Sys. Evol. Microbiol. (57) 1846-1850, DACO: M2.0

2.0 Effets sur la santé humaine et animale

1416132 2001, J. Dutkiewicz et al, Response to herb processing workers to work-related airborne allegerns, Ann Agric Environ Med, 8, p.275-283, DACO: M4.0

2122452 Anne Sietske de Boer and Broge Diderichsen, On the safety of Bacillus subtilis and B. amyloloiquefaciens: a review, DACO: M2.7.2, M4.9, M9.3

2415289 1986, Nord Vet Med. Jul-Aug; 38(4): 233-6, Isolation of Bacillus subtilis in connection with bovine mastitis, DACO: M4.0, M9.3

2419023 2010, International Journal of Food Microbiology (136) 318-325, Toxinogenic and spoilage potential of aerobic spore-formers isolated from raw milk, DACO: M2.0, M4.0

2419025 Recurrent Septicemia in an Immunocompromised Patient Due to Probiotic Strains of Bacillus subtilis, DACO: M2.0, M4.0

2419055 1990, The New England Journal of Medicine, An Investigation of the Cause of The Eosinophilia-Myalgia Syndrome Associated with Tryptophan Use, DACO: M2.0, M4.0, M9.3

2419230 1987, International Journal of Systematic Bacteriology, p. 69-71, Bacillus amyloliquefaciens sp. nov. nom. rev., DACO: M2.0, M4.0, M9.0

2452241 Delcambe, L., et al., Structure of Iturin and Iturin-like Substances - 569th Meeting, Sussex, Biochemical Society Transactions, Vol. 5, DACO: M2.0, M4.0

2452243 2013, Zhao, X., et al, Optimization of Antifungal Lipopeptide Production from Bacillus sp. BH072 by Response Surface Methodology, Journal of Microbiology, DACO: M2.0, M4.0

3.0 Effets sur l'environnement

2122452 Anne Sietske de Boer and Broge Diderichsen, On the safety of Bacillus subtilis and B. amyloloiquefaciens: a review, DACO: M2.7.2, M4.9, M9.3

2415289 1986, Nord Vet Med. Jul-Aug; 38(4): 233-6, Isolation of Bacillus subtilis in connection with bovine mastitis, DACO: M4.0, M9.3

2415807 2002. Alippi, A. A.C. Lopez, and O. M. Aguilar. Differentiation of Paenibacillus larvae subsp. larvae, the cause of American foulbrood of honeybees, by using PCR and restriction fragment analysis of genes encoding 16S rRNA. Appl. Environ. Microbiol. 68(7): 3655, DACO: M9.5.1

2415809 2004, Singh, P. and S.S. Cameotra. Potential application of microbial surfactants in biomedical science. Trends Biotechnol. 22: 142-146, DACO: M9.5.1

2419055 1990, The New England Journal of Medicine, An Investigation Of The Cause Of The Eosinophilia-Myalgia Syndrome Associated With Tryptophan Use, DACO: M2.0, M4.0, M9.3

2419230 1987, International Journal of Systematic Bacteriology, p. 69-71, Bacillus amyloliquefaciens sp. nov. nom. rev., DACO: M2.0, M4.0, M9.0

2452408 2002, Nicholson. - B amyloliquifaciens D747, DACO: M2.0, M9.0

2463194 1984, Menon, A.S., DeMestral, J., Survival of Bacillus thuringiensis Var. Kurstaki In Waters, Water, Air, and Soil Pollution 25 (1985) 265-274. 0049-6979/85.15., DACO: M8.0

2465547 1987, Ohana, Fate of Bacillus thuringiensis subsp. israelensis under Simulated Field Conditions, Applied and Environmental Microbiology, DACO: M8.0